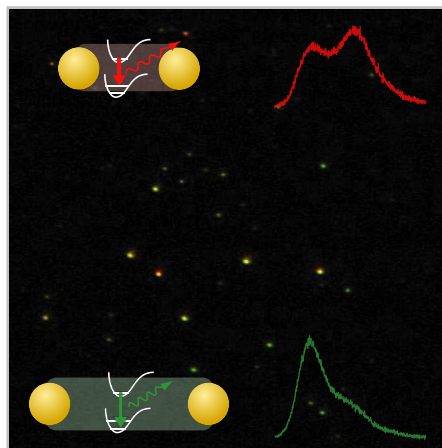


Plasmonische Nahfeldresonatoren aus zwei biokonjugierten Goldnanopartikeln



Dissertation an der Fakultät für Physik
der Ludwig–Maximilians–Universität München
vorgelegt von Moritz Ringler aus Essen

München, im März 2008

Betreuer: Prof. Dr. Jochen Feldmann
Zweitgutachter: Prof. Dr. Hermann Gaub
Mündliche Prüfung am 9. Mai 2008

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	11
2	Grundlagen	15
2.1	Optische Eigenschaften einzelner Goldnanopartikel	15
2.1.1	Partikelplasmonen	15
2.1.2	Mie-Theorie	17
2.2	Optische Eigenschaften kleiner Nanopartikelaggregate	21
2.2.1	Gekoppelte Partikelplasmonen	21
2.2.2	Verallgemeinerte Mie-Theorie	24
2.2.3	Andere Methoden zur Lösung des Streuproblems	29
2.3	Die durchstimmbare Resonanz des Nanopartikeldimers	30
2.3.1	Fernfeld – elastische Lichtstreuung	30
2.3.2	Nahfeld	33
2.4	Plasmonverstärkte Fluoreszenz und Ramanstreuung	38
2.4.1	Fluoreszenz, resonanter Energietransfer und Purcell-Effekt	38
2.4.2	Ramanstreuung und oberflächenverstärkte Ramanstreuung	42
2.5	Proteine als Verbinder für Nanopartikel	44
2.5.1	Biotin-Streptavidin-Bindung	44
2.5.2	Funktionalisierung von Goldnanopartikeln mit biotiniliertem Albumin	47
2.5.3	Zetapotential funktionalisierter Nanopartikel	49
3	Experimentelle Methoden zur Untersuchung kleiner Nanopartikelaggregate	53
3.1	Präparationsbegleitende Ensemblemessungen	53
3.1.1	Extinktionsspektroskopie	53
3.1.2	Zetapotentialmessung mittels Phasenanalysen-Lichtstreuung	54
3.1.3	Nanopartikel-Gelelektrophorese	56
3.2	Mikroskopie einzelner Dimere	60
3.2.1	Transmissionselektronenmikroskopie	60
3.2.2	Elastische Streuspektroskopie einzelner Nanopartikeldimere	61
3.2.3	Raman- und Fluoreszenzspektroskopie an einzelnen Dimeren	64
4	Herstellung von Protein-Ligand-verbundenen Nanopartikeldimeren	67
4.1	Aggregation biotinilierter Nanopartikel mit Streptavidin	68

4.2	Isolierung der Dimere per Gelelektrophorese	71
4.3	Elektronenmikroskopische Vermessung des Partikelabstands	73
5	Theorie der Raman- und Fluoreszenzverstärkung in Nanopartikelaggregaten	75
5.1	Anregungsverstärkung	76
5.2	Emission und Energietransfer für ein Zwei-Niveau-System	76
5.2.1	Entwicklung des von einem oszillierenden Punktdipol emittierten Feldes in sphärischen Vektorwellenfunktionen	77
5.2.2	Lösung der Maxwellgleichungen und Berechnung der abgestrahlten und absorbierten Leistungen	78
5.2.3	Zerfallsraten des angeregten Zustands eines Zwei-Niveau-Systems	80
5.3	Fluoreszenzverstärkung für ein reales Molekül	80
5.3.1	Anregungsverstärkung	81
5.3.2	Emissionsverstärkung	81
5.3.3	Gesamtverstärkung	83
5.4	Fluoreszenzverstärkung in mit dem Rasterkraftmikroskop zusammengesetzten Goldnanopartikeldimeren	85
5.5	Verstärkung der Ramanstreuung	88
6	Purcell-Effekt in Nanopartikeldimer-Nahfeldresonatoren	91
6.1	Experiment	91
6.2	Modellrechnung	95
6.3	Vergleich von Experiment und Modell – Diskussion	100
7	Ramaninduzierte Abstandsänderung in Nanopartikeldimeren	105
7.1	Fluktuierende Ramanspektren	105
7.2	Verstimmung der Dimerresonatoren nach Ramanstreuung an den Proteinen im Partikelzwischenraum	107
7.3	Diskussion – Ramaninduzierte Abstandsänderung	109
8	Zusammenfassung und Ausblick	113
Anhang		115
A	GMM – ein FORTRAN-Programm zur Berechnung der verallgemeinerten Mie- Streuung	116
B	GMM-FIELD – eine GMM-Erweiterung zur Berechnung des Nahfeldes	117
C	GMM-DIP – verallgemeinerte Mie-Streuung eines Dipolfeldes	122

Kurzfassung

Paare sphärischer metallischer Nanopartikel sind das ideale Modellsystem, um gekoppelte plasmonische Resonanzen und die von ihnen hervorgerufenen Phänomene oberflächenverstärkter Ramanstreuung und Fluoreszenz zu untersuchen. Denn solche Nanopartikeldimere sind die einfachsten plasmonischen Systeme, in denen ein ausgeprägter elektromagnetischer Heißpunkt auftritt: eine massive Überhöhung der elektrischen Feldstärke und der Modendichte des elektromagnetischen Feldes im Partikelzwischenraum. Über den Abstand der Partikel lässt sich die Frequenz, bei der dieser Heißpunkt auftritt, durchstimmen. Gleichzeitig sind Dimere einfach genug, dass das Spektrum der elastischen Lichtstreuung sie eindeutig charakterisiert. Diese beiden Tatsachen werden in der vorliegenden Arbeit zum ersten Mal konsequent ausgenutzt, und zwar um den Einfluss des Dimer-Heißpunkts auf Fluoreszenz und Ramanstreuung von organischen Molekülen zu untersuchen.

Es wird gezeigt, dass das Fluoreszenzspektrum des Farbstoffes Cy3 in Dimerresonatoren durch den Purcell-Effekt selektiv bei der jeweiligen Resonanzfrequenz überhöht wird, wodurch sich die relativen Intensitäten der vibronischen Subbanden des Spektrums drastisch ändern und teilweise sogar umkehren. Die experimentellen Ergebnisse werden im Rahmen einer eigens entwickelten Theorie der Fluoreszenzverstärkung in Anordnungen von zwei oder mehr Nanopartikeln interpretiert. Diese Theorie der Fluoreszenzverstärkung berücksichtigt die vibronischen Unterniveaus des Grundzustands realer Fluorophore und geht damit über die derzeit in der Literatur übliche Behandlung von Fluoreszenzfarbstoffen in der Nähe von Nanopartikeln als reine Zwei-Niveau-Systeme hinaus. Dadurch werden genaue Vorhersagen der spektralen Verschiebung der Farbstoffemission durch den Purcell-Effekt in Nanopartikeldimeren möglich. Die berechnete Verformung der Fluoreszenzspektren stimmt sehr gut mit den experimentellen Ergebnissen überein. Dies zeigt, dass die Verformung der Spektren wie im Modell angenommen ausschließlich auf die Änderung der Wahrscheinlichkeiten strahlender Übergänge zurückzuführen ist. Der gleichzeitig auftretende Energietransfer vom Farbstoff zu den Nanopartikeln beeinflusst die Form der Spektren nicht. Damit ist dieses Experiment die erste direkte Messung der Änderung der Wahrscheinlichkeiten strahlender Übergänge in einem einzelnen plasmonischen Resonator mit Abmessungen von weniger als der halben Wellenlänge.

Durch Experimente zur Ramanstreuung an Proteinen in einzelnen Nanopartikeldimeren bringt diese Arbeit eine zuvor unentdeckte Ursache für die starke Fluktuation von Spektren der oberflächenverstärkten Ramanstreuung aus einzelnen elektromagnetischen Heißpunkten zum Vorschein. Die korrelierten Messungen von Ramanstreuung und elastischer Lichtstreuung zeigen eine Verschiebung der Dimerresonanz genau dann, wenn zuvor Ramanaktivität gemessen worden ist. Dies erlaubt den Schluss, dass Raman-angeregte Moleküle auf die Geometrie und die Resonanzen von Nanopartikelaggregaten, wie sie üblicherweise zur Messung oberflächenverstärkter Ramanstreuung eingesetzt werden, zurückwirken können. Als wahrscheinlichster Mechanismus dieser Rückwirkung wird in der vorliegenden Arbeit die Anregung mechanischer Freiheitsgrade des ramanstreuenden Proteins und seine anschließende Konformationsänderung diskutiert.

Zur systematischen experimentellen Untersuchung von Nanopartikeldimeren ist es erforderlich, diese in ausreichender Zahl und Reinheit reproduzierbar herzustellen. In den Experimenten der vorliegenden Arbeit werden dazu proteinkonjugierte Nanopartikel mittels Protein-Ligand-Wechselwirkungen gezielt zu Dimeren verknüpft. Gelelektrophorese mit anschließender Elektroelution entfernt größere Aggregate aus der Probe und erhöht den Dimeranteil von 20 % auf 60 %. Bei Goldnanopartikeln mit 40 nm Durchmesser werden breite Abstandsverteilungen mit Oberflächenabständen zwischen 0,5 nm und 14 nm erzielt. Diese breiten Abstandsverteilungen ermöglichen in der optischen Einzeldimerspektroskopie die Untersuchung von Dimeren mit Resonanzfrequenzen zwischen dem grünen Spektralbereich (550 nm) und dem nahen Infrarot (720 nm).

Zeitschriftenbeiträge zum Themenfeld dieser Dissertationsschrift

- i. M. Ringler, A. Schwemer, M. Wunderlich, A. Nichtl, K. Kürzinger, T. A. Klar und J. Feldmann. Shaping emission spectra of fluorescent molecules with single plasmonic nanoresonators. *Phys. Rev. Lett.* Im Druck.
- ii. M. Ringler, T. A. Klar, A. Schwemer, A. Sussha, J. Stehr, G. Raschke, S. Funk, M. Borowski, A. Nichtl, K. Kürzinger, R. T. Phillips und J. Feldmann. Moving Nanoparticles with Raman Scattering. *Nano Lett.* **7**(9), 2753 (2007).
- iii. A. Bek, R. Jansen, M. Ringler, S. Mayilo, T. A. Klar und J. Feldmann. Fluorescence Enhancement in Hot Spots of AFM-Designed Gold Nanoparticle Sandwiches. *Nano Lett.* **8**(2), 485 (2008).
- iv. T. Soller, M. Ringler, M. Wunderlich, T. Klar, J. Feldmann, H.-P. Josel, Y. Markert, A. Nichtl und K. Kürzinger. Radiative and Nonradiative Rates of Phosphors Attached to Gold Nanoparticles. *Nano Lett.* **7**(7), 1941 (2007).
- v. E. Dulkeith, M. Ringler, T. A. Klar, J. Feldmann, A. Muñoz Javier und W. J. Parak. Gold Nanoparticles Quench Fluorescence by Phase Induced Radiative Rate Suppression. *Nano Lett.* **5**(4), 585 (2005).

Weitere Zeitschriftenbeiträge

- vi. E. V. Shevchenko, M. Ringler, A. Schwemer, D. V. Talapin, T. A. Klar, A. L. Rogach, J. Feldmann und A. P. Alivisatos. Self-Assembled Binary Superlattices of CdSe and Au Nanocrystals and their Fluorescence Properties. *J. Am. Chem. Soc.* **130**(11), 3274 (2008).
- vii. A. S. Sussha, M. Ringler, M. Paderi, N. Li Pira, G. Carotenuto und A. L. Rogach. Luminescent gold films by thermolysis of gold-thiolate complexes in a polymer matrix. In Vorbereitung.
- viii. T. Soller, M. Ringler, M. Wunderlich, T. A. Klar, J. Feldmann, H.-P. Josel, J. Koci, Y. Markert, A. Nichtl und K. Kürzinger. Streptavidin Reduces Oxygen Quenching of Biotinylated Ruthenium(II) and Palladium(II) Complexes. In Vorbereitung.

Vorträge

- i. M. Ringler, T. A. Klar, G. Raschke, A. Schwemer und J. Feldmann. Optical manipulation of nanostructures built from organic molecules and gold nanoparticles. Eingeladener Vortrag. *International Conference on Coherent and Nonlinear Optics 2007*, Minsk (Belarus).
- ii. M. Ringler, T. A. Klar, A. Schwemer, J. Stehr, G. Raschke und J. Feldmann, A. Nichtl und K. Kürzinger, R. T. Phillips. Surface-enhanced Raman scattering (SERS) in single gold nanoparticle dimers. *Molecular Plasmonics 2007*, Jena.
- iii. M. Ringler, T. A. Klar*, A. Schwemer, J. Stehr, A. Nichtl, K. Kürzinger, R. T. Phillips und J. Feldmann. Surface-enhanced Raman scattering (SERS) in single gold nanoparticle dimers. *European Conferences on Biomedical Optics 2007*, München.
- iv. M. Ringler, T. Soller, M. Wunderlich, Y. Markert, H. Josel, A. Nichtl, K. Kürzinger, T. A. Klar* und J. Feldmann. Phosphorescence quenching in the vicinity of gold nanoparticles. *European Conferences on Biomedical Optics 2007*, München.
- v. M. Ringler, T. A. Klar, A. Schwemer, J. Stehr, A. Nichtl, K. Kürzinger, G. Raschke, R. T. Phillips und J. Feldmann. Surface-enhanced Raman scattering (SERS) in single gold nanoparticle dimers. *DPG Frühjahrstagung 2007*, Regensburg.
- vi. T. Soller, M. Ringler*, T. A. Klar, J. Feldmann, M. Wunderlich, Y. Markert, H.-P. Josel, A. Nichtl und K. Kürzinger. Phosphorescence quenching in the vicinity of gold nanoparticles. *DPG Frühjahrstagung 2007*, Regensburg.
- vii. M. Ringler, S. Funk, M. Borowski, T. Soller, A. Suscha, G. Raschke, T. A. Klar, and J. Feldmann. Spectroscopic properties of molecules in small gold-nanoparticle aggregates. *DPG Frühjahrstagung 2006*, Dresden.
- viii. M. Ringler, E. Dulkeith, T. A. Klar, J. Feldmann, A. Muñoz Javier und W. J. Parak. Gold Nanoparticles quench fluorescence by phase induced radiative rate suppression. *Bunsentagung 2005*, Frankfurt.
- ix. M. Ringler, E. Dulkeith, T. A. Klar, J. Feldmann, A. Muñoz Javier und W. J. Parak. Distance dependence of fluorescence quenching by gold nanoparticles. *DPG Frühjahrstagung 2005*, Berlin.

*Vortragender

- x. M. Ringler, E. Dulkeith, T. Niedereichholz, T. A. Klar und J. Feldmann, A. Muñoz-Javier und W. J. Parak. Fluorescence Lifetime Investigations of DNA mediated Dye/Gold Nanoparticle Conjugates. *DPG Frühjahrstagung 2004*, Regensburg.
- xi. M. Ringler. Fluorescence Lifetime Investigations of DNA mediated Dye/Gold Nanoparticle Conjugates. *SFB 486 Manipulation von Materie auf der Nanometerskala, Workshop 2004*, Ringberg.

1 Einleitung

Der dieser Arbeit vorangestellte Leitsatz bedeutet, dass zwei in vielen Fällen etwas wesentlich Anderes, ja Besseres sind als eins, da aus ihrer Gemeinsamkeit eine neue Qualität erwächst. Dies trifft genau den Kern der in dieser Arbeit untersuchten Physik plasmonischer Nanopartikel. Zwar zeigt bereits ein einzelnes metallisches Partikel eine Plasmonschwingung der Leitungsbandelektronen und die damit einhergehende Resonanz in den optischen Spektren. Kommt aber ein weiteres Partikel hinzu, um mit dem ersten ein Dimer zu bilden, so ergeben sich durch die Kopplung der Plasmonen zwei wesentlich neue Phänomene: zum einen wird die Frequenz der Resonanz über den Abstand der Partikel durchstimmbar, und zum anderen kommt es im Zwischenraum der Partikel zu einer enormen Überhöhung der Modendichte des elektromagnetischen Feldes und – bei resonanter Anregung – der elektrischen Feldstärke. Damit hat das Nanopartikeldimer beinahe ebenso viel mit einem durch den Abstand der Spiegel durchstimmbaren Hohlraumresonator gemeinsam wie mit einem einzelnen Nanopartikel. Eine vergleichbar neue Qualität ist beim Übergang von zwei zu drei oder mehr Partikeln nicht mehr zu erwarten. Martin Moskovits, einer der Begründer der elektromagnetischen Theorie der oberflächenverstärkten Ramanstreuung, schreibt dazu „although perhaps another order of magnitude may be achievable by constructing a cluster of optimal geometry, the dimer configuration already accounts for the lion’s share of the extra enhancement due to aggregation“ [1]. Dies macht Dimere metallischer Nanopartikel zu dem Modellsystem schlechthin für die Untersuchung gekoppelter plasmonischer Resonanzen und der von ihnen hervorgerufenen Phänomene verstärkter Ramanstreuung und verstärkter Fluoreszenz auf nanostrukturierten Metalloberflächen.

Das Studium des gekoppelten Plasmons eines Nanopartikeldimers setzt das detaillierte Verständnis der ungekoppelten Plasmonen der Einzelpartikel voraus. Das grundlegende theoretische Verständnis des Plasmons eines einzelnen Nanopartikels und seine erste direkte Beobachtung gehen bereits auf den Beginn des 20. Jahrhunderts zurück. Lorenz und Mie erarbeiteten die nach ihnen benannte Lösung der Maxwellgleichungen in sphärischer Symmetrie [2, 3], Siedentopf und Zsigmondy beobachteten erstmalig die Lichtstreuung einzelner Goldnanopartikel [4]. Ein umfassendes Verständnis des Einzelpartikelplasmons ist jedoch erst in den letzten zehn Jahren entstanden, in denen einerseits empfindliche Detektoren verfügbar wurden und andererseits mit der Geburt der Nanotechnologie und der damit möglichen Manipulierung und Beobachtung von Materie auf der Nanometerskala das Interesse an der Physik von Systemen in der Größe plasmonischer Nanopartikel neu erwacht ist. Insbesondere die Möglichkeit, einzelne Nanopartikel zu spektroskopieren, ermöglichte dabei wesentliche Durchbrüche, da sie es erlaubt, den

Einfluss der inhomogenen Verbreiterung des Plasmons im Ensemble zu eliminieren. Linienbreite des Plasmons [5], optisches Heizen und Elektron-Phonon-Kopplung [6, 7], Abhängigkeit der Resonanzfrequenz vom Brechungsindex des umgebenden Mediums [8], elektrochemische Einflüsse [9], intrinsische Größenabhängigkeit [10], Photolumineszenz [11] und nichtlineare Phänomene wie die Erzeugung der dritten Harmonischen [12] wurden studiert und sind im wesentlichen verstanden. Dadurch wurde es möglich, Hybride einzelner metallischer Nanopartikel mit organischen Molekülen zu untersuchen. Besonderes Augenmerk richtete sich dabei auf die Messung von Fluoreszenz und Ramanstreuung in der Nähe von Nanopartikeln, die beide großes Potential zur Entwicklung von hochempfindlichen Sensoren bergen. Es zeigte sich dabei jedoch eine deutliche Diskrepanz zwischen Resultaten, die an einzelnen Partikeln erzielt wurden, und den Beobachtungen an großen, chaotischen metallischen Nanostrukturen und Nanopartikelaggregaten. Einzelne Nanopartikel mindern fast immer die Lumineszenz eng benachbarter Farbstoffmoleküle [13–22]. Nur wenn Abstand und Orientierung des Farbstoffmoleküls genau kontrolliert werden und das Plasmon für eine kräftige Anregungsverstärkung genutzt wird, kann bei Einzelpartikeln Fluoreszenzverstärkung erreicht werden [23, 24]. Dagegen zeigt sich auf Nanopartikelaggregaten und an fraktalen Metallstrukturen praktisch immer eine Erhöhung der Fluoreszenz [25–33]. Ähnlich ist die Situation bei oberflächenverstärkter Ramanstreuung: Während an Nanopartikelaggregaten und ungeordneten Nanostrukturen gewaltige Erhöhungen der Ramanstreuung um einen Faktor von bis zu 10^{14} gemessen wurden [34–40], konnte an einzelnen Partikeln keine vergleichbare Verstärkung der Ramanstreuung festgestellt werden.

Die Erklärung dafür liegt darin, dass die Kopplung zwischen den Plasmonen der einzelnen Nanopartikel der ausschlaggebende Faktor für die Verstärkung von Fluoreszenz und Ramanstreuung in Nanopartikelaggregaten ist. Die Plasmonenkopplung sorgt zum einen dafür, dass bei einem ungeordneten Aggregat die Resonanzfrequenzen über das ganze Spektrum verteilt sind und deshalb für eine gegebene Anregungsfrequenz stets die passende Plasmonresonanz dabei ist. Zum anderen sorgt sie dafür, dass das bei einem Einzelpartikel im wesentlichen auf das Partikelinnere beschränkte resonant überhöhte Feld aus dem Partikel austritt und so an die ramanstreuenden oder fluoreszierenden Moleküle koppeln kann.

Wie eingangs erläutert, ist das Dimer zweier sphärischer Nanopartikel das einfachste und damit das ideale Modellsystem für die Kopplung von Nanopartikelplasmonen und ihre Auswirkung auf Fluoreszenz und Ramanstreuung benachbarter Moleküle. In der jüngsten Vergangenheit ist daher das Nanopartikeldimer ins Zentrum des Interesses der Grundlagenforschung über oberflächenverstärkte Ramanstreuung und Fluoreszenz gerückt [41–46]. Die Studien, die Gegenstand der vorliegenden Dissertation sind, reichen wesentlich über diese Vorgängerarbeiten hinaus. Es ist hier erstmalig gelungen, das Wechselspiel von Plasmonkopplung einerseits und Fluoreszenz bzw. Ramanstreuung andererseits direkt zu beobachten, da beide erstmalig unabhängig voneinander am gleichen einzelnen Nanopartikeldimer gemessen werden konnten.

Im Grundlagenkapitel dieser Arbeit werden die Konzepte des Plasmons einzelner Goldnanopartikel und der Plasmonkopplung bei Dimeren eingeführt. Gleichzeitig wird mit dem

Formalismus der verallgemeinerten Mie-Theorie das theoretische Rüstzeug bereitgestellt, das für ein quantitatives Verständnis der durchstimmbaren Resonanz von Nanopartikeldimeren erforderlich ist und das es – in Kapitel 5 dieser Arbeit – ermöglichen wird, eine Theorie der Raman- und Fluoreszenzverstärkung in Nanopartikelaggregaten zu entwickeln. Die Phänomene der Ramanstreuung und Fluoreszenz selbst werden beschrieben und ihre Verstärkung in einem Nanopartikelaggregat wird qualitativ erläutert. Schließlich werden einige Aspekte aus der Biochemie präsentiert, die zum Verständnis der gezielten Herstellung von Nanopartikeldimeren mittels Protein-Ligand-Wechselwirkung notwendig sind.

Das folgende Methodenkapitel behandelt zunächst einige Techniken zur Ensemblecharakterisierung von Nanopartikelproben, die bei der Herstellung der Dimere zum Einsatz kommen. Anschließend wird die im Mittelpunkt dieser Arbeit stehende, neuentwickelte Technik der korrelierten Streu- und Fluoreszenz- bzw. Ramanspektroskopie vorgestellt, die es erstmalig ermöglicht, zunächst das gekoppelte Plasmon eines Nanopartikeldimers zu charakterisieren, dann seine Auswirkung auf Fluoreszenz und Ramanstreuung von Molekülen zu untersuchen, die in den Partikelzwischenraum des Dimers eingelagert sind, und schließlich eine eventuelle Rückwirkung auf das Dimerplasmon zu messen.

Kapitel 4 ist der Herstellung von Nanopartikeldimeren für die Einzeldimerspektroskopie gewidmet. Dazu wurde von mir eine neue Methode entwickelt, bei der Protein-Ligand-Bindungen ausgenutzt werden, um Nanopartikel in großer Zahl zu Dimeren zu verknüpfen, und anschließend größere Aggregate und unverknüpfte Einzelpartikel mittels Gelelektrophorese aus der Probe entfernt werden. Elektronenmikroskopisch gewonnene Daten zur Verteilung der Partikelabstände in den Dimeren werden vorgestellt und diskutiert.

In Kapitel 5 wird aufbauend auf der verallgemeinerten Mie-Theorie eine umfassende theoretische Beschreibung zur Raman- und Fluoreszenzverstärkung in Nanopartikelaggregaten entwickelt, die zu analytischen Ausdrücken für Anregungsverstärkung, Energietransferfaktor und Purcellfaktor in solchen Aggregaten führt. Die Implementierung dieser neu entwickelten theoretischen Beschreibung als Computer-Programm wird im Anhang der Arbeit vorgestellt und anhand der Ergebnisse für ein Einzelpartikel mit etablierten Methoden verglichen und validiert. Wir leiten her, wie sich aus Anregungsverstärkung, Energietransferfaktor und Purcellfaktor Fluoreszenz- und Ramanverstärkung für ein reales Molekül mit mehreren vibronischen Unterniveaus des elektronischen Grundzustands berechnen lassen. Als Beispiel für die Anwendung der in Kapitel 5 entwickelten Theorie berechnen wir die Fluoreszenzverstärkung für eine Farbstoffkugel in der Mitte eines mit dem Rasterkraftmikroskop zusammengesetzten Dimers.

In den experimentellen Ergebniskapiteln der Dissertation werden sodann zwei wesentliche Aspekte von oberflächenverstärkter Ramanstreuung und oberflächenverstärkter Fluoreszenz an einzelnen Protein-Ligand-verbundenen Dimeren beleuchtet. Im Kapitel zum Purcell-Effekt in Nanopartikeldimer-Nahfeldresonatoren wird erstmalig die Änderung des Fluoreszenzspektrums von Farbstoffen in Nanopartikeldimeren untersucht. Es zeigt sich, dass das Dimer wie ein makroskopischer Resonator resonante Übergänge verstärkt und nichtresonante Übergänge

unterdrückt und dadurch das Farbstoffmolekül zwingt, bei der Frequenz des gekoppelten Plasmons zu emittieren. Die experimentellen Daten stimmen sehr gut mit Daten überein, die nach dem im vorangehenden Kapitel entwickelten Modell berechnet worden sind.

Im Kapitel 7 zeigen wir eine bisher unbeachtet gebliebene Ursache für die bei Ramanspektren aus einzelnen elektromagnetischen Heißpunkten häufigen Fluktuationen der Intensitäten und Wellenzahlen. Aus dem Vergleich des Streuspektrums vor und nach Ramanstreuung ergibt sich, dass das ramanaktive Molekül auf das Dimer und sein Plasmon zurückwirken kann, indem es die Nanopartikel auseinanderdrückt oder näher zusammenbringt. Mögliche Mechanismen für diesen Vorgang werden erörtert, wobei sich als wahrscheinlichste Erklärung eine Konformationsänderung des Proteins durch die untrennbar mit der Ramanstreuung verbundene Anregung seiner mechanischen Freiheitsgrade ergibt.

Die Arbeit schließt mit einer Zusammenfassung der Hauptresultate, deren Einordnung in den wissenschaftlichen Kontext und einem Ausblick auf sich ergebende Möglichkeiten für künftige Forschung und Anwendungen.

2 Grundlagen

2.1 Optische Eigenschaften einzelner Goldnanopartikel

2.1.1 Partikelplasmonen

Goldnanopartikel sind Festkörper aus 30 000 bis 250 Millionen Goldatomen mit Abmessungen zwischen 5 nm und 100 nm. Sie zeigen sowohl gegenüber dem einzelnen Atom oder Molekül als auch gegenüber dem ausgedehnten Festkörper deutlich verschiedene optische Eigenschaften. Denn zum einen besitzen Nanopartikel bereits eine metallische Bandstruktur mit einem Leitungsband von frei beweglichen Elektronen, zum anderen sind ihre Abmessungen klein im Vergleich zur Wellenlänge des sichtbaren Lichts, so dass die Phase einer Lichtwelle im Partikel zu einem gegebenen Zeitpunkt nur wenig variiert. Dadurch können die gesamten Leitungsbandelektronen phasengleich gegenüber dem Gitter der positiv geladenen Atomrümpfe ausgelenkt werden. Diese in Abb. 2.1a gezeigte Polarisierung des Nanopartikels bewirkt eine rückstellende Coulombkraft, so dass sich das gesamte Nanopartikel wie ein durch die elektromagnetische Welle getriebener Oszillator verhält. Eigenfrequenz und Oszillatorstärke hängen dabei neben dem Material auch von Form und Größe des Partikels sowie von seiner dielektrischen Umgebung ab.

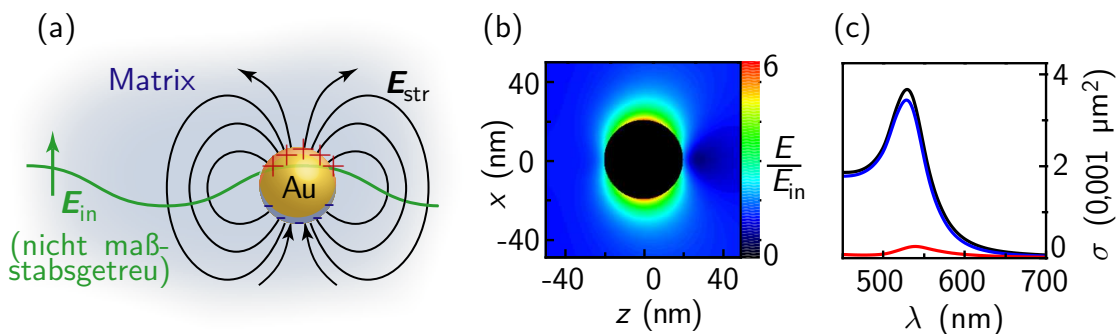


Abbildung 2.1: Einzelpartikelplasmon (a) Schematische Darstellung eines Goldnanopartikels, in dem durch einfallendes Licht die Plasmonresonanz angeregt wird; nach [47]. (b) Berechnetes Nahfeld eines Goldnanopartikels mit 40 nm Durchmesser in Wasser. Das in $+z$ -Richtung einfallende Feld ist eine ebene Welle der Wellenlänge $\lambda = 532$ nm mit Polarisation wie in (a). (c) Berechnete Streu- (rot), Absorptions- (blau) und Extinktionsspektren (schwarz) eines 40-nm-Goldpartikels in wässriger Lösung. Für die Rechnungen wurden die im Anhang beschriebenen Programme GMM und GMM-FIELD und die dielektrische Funktion von Gold nach [48] benutzt.

Die bei der Eigenfrequenz eines solchen Nanopartikeloszillators auftretende Resonanz in den optischen Spektren wird als Partikelplasmonresonanz, kurz als Partikelplasmon oder Plasmon, gelegentlich auch als (lokalisierte) Oberflächenplasmonresonanz oder als Plasmon-Polariton bezeichnet. Für Goldnanopartikel mit Radien von weniger als ca. 20 nm in wässriger Umgebung tritt die Partikelplasmonresonanz im Grünen auf: bei einer Wellenlänge von 520 nm entsprechend einer Photonenenergie von 2,38 eV.

Nahfeld

Wie in Abb. 2.1b zu erkennen, reicht das Feld des polarisierten Nanopartikels teilweise in den Außenraum und vermindert oder erhöht dort je nach Betrag und Orientierung zum einfallenden Feld E_{in} die lokale elektrische Feldstärke E , wodurch Fluoreszenz [20, 23, 24] und Raman-Streuung dort befindlicher Moleküle beeinflusst werden [34, 35, 49].

Allerdings ist die maximale Überhöhung der elektrischen Feldstärke bei einem einzelnen sphärischen Nanopartikel vergleichsweise klein (Abb. 2.1b). Die gerade Verbindungslinie zwischen den getrennten Ladungen liegt stets innerhalb des Nanopartikels, und so verlaufen auch die Feldlinien größtenteils innerhalb des Partikels.

Strahlende und nichtstrahlende Dämpfung – Streuung und Absorption

Bei der Schwingung der Leitungsbandelektronen im Nanopartikeloszillator werden Ladungen beschleunigt, und so kommt es zur Emission einer elektromagnetischen Welle mit der Frequenz des anregenden Lichts: die einfallende Welle wird gestreut. Der Wirkungsquerschnitt σ_{str} für die Streuung ist proportional zur Polarisierung des Nanopartikels und weist daher in der Nähe der Eigenfrequenz des Oszillators ein ausgeprägtes Maximum auf. Diese Streuresonanz ermöglicht es, einzelne Goldnanopartikel in einem geeigneten Streulicht-Mikroskop als helle grüne Punkte sichtbar zu machen [4] und zu spektroskopieren [5, 50, 51]. Das berechnete Streuspektrum für ein 40-nm-Goldpartikel in Wasser ist in Abb. 2.1c gezeigt.

Das Partikelplasmon erfährt eine nichtstrahlende Dämpfung, die bewirkt, dass die anregende Welle nicht nur gestreut, sondern auch absorbiert wird. Die nichtstrahlende Dämpfung umfasst zwei Hauptkomponenten: Dephasierung durch Stöße der oszillierenden Elektronen und Plasmonzerfall unter Erzeugung eines Elektron-Loch-Paares [5, 52, 53]. Bei den Stößen kann zwischen Stößen der oszillierenden Elektronen untereinander, an Fehlstellen im Gitter und an der Partikeloberfläche differenziert werden, wobei der Einfluss der Oberflächenstreuung mit abnehmendem Partikelradius immer größer wird. Bei den Elektron-Loch-Paar-Anregungen unterscheidet man zwischen Intrabandanregungen, bei denen Elektron und Loch im *sp*-Band erzeugt werden, und Interbandanregungen, bei denen das Loch im *d*-Band und das Elektron im *sp*-Band erzeugt werden.

Die nichtstrahlenden Dämpfungsprozesse bewirken letztendlich, dass elektromagnetische Energie durch das Plasmon äußerst effizient in Wärme umgesetzt wird. Das Plasmon ist also

2.1 Optische Eigenschaften einzelner Goldnanopartikel

eine Senke für die Energie des Lichtfeldes. Daher nimmt auch der Absorptionsquerschnitt σ_{abs} der Goldnanopartikel in der Nähe der Eigenfrequenz der Plasmonoszillation ein Maximum an (Abb. 2.1c). Die erzeugte Wärme kann dazu genutzt werden, einzelne Nanopartikel abzubauen [54], Tumorgewebe zu zerstören [55] oder Nanopartikelaggregate aufzuschmelzen [56].

2.1.2 Mie-Theorie

Zur theoretischen Behandlung der optischen Eigenschaften von Goldnanopartikeln müssen die Maxwellgleichungen mit den entsprechenden Randbedingungen gelöst werden. Dabei wird das Goldnanopartikel als eine Kugel im Ursprung des Koordinatensystems idealisiert und seine Materialeigenschaften werden durch eine dielektrische Funktion ε_I modelliert.

Streuung und Absorption eines Lichtfeldes E_{in} mit Kreisfrequenz ω an einem auf diese Weise idealisierten Partikel können berechnet werden, indem man die Maxwellgleichungen unter geeigneten Randbedingungen löst.

Formulierung des Problems

In einem quellenlosen, isotropen und homogenen Medium gelten für Felder mit harmonischer Zeitabhängigkeit¹ $e^{-i\omega t}$ die Maxwellgleichungen

$$\nabla \cdot \mathbf{E} = 0 \quad (2.1.1a)$$

$$\nabla \cdot \mathbf{H} = 0 \quad (2.1.1b)$$

$$\nabla \times \mathbf{E} = i\omega \mu_0 \mu \mathbf{H} \quad (2.1.1c)$$

$$\nabla \times \mathbf{H} = -i\omega \varepsilon_0 \varepsilon \mathbf{E} \quad (2.1.1d)$$

mit den Vektoren des elektrischen und magnetischen Feldes \mathbf{E} und \mathbf{H} , der magnetischen Permeabilität $\mu_0 \mu$ und der Permittivität $\varepsilon_0 \varepsilon$. Die Gleichungen (2.1.1c) und (2.1.1d) können durch Anwendung des Rotationsoperators entkoppelt werden zu

$$\nabla \times (\nabla \times \mathbf{E}) - k^2 \mathbf{E} = 0 \quad (2.1.2a)$$

$$\nabla \times (\nabla \times \mathbf{H}) - k^2 \mathbf{H} = 0 \quad (2.1.2b)$$

wobei das Quadrat der Wellenzahl im Medium $k^2 = \omega^2 \mu_0 \mu \varepsilon_0 \varepsilon$ eingeführt wurde. Das Gleichungssystem (2.1.2) lässt sich durch Verwendung der Divergenzfreiheit Gl. (2.1.1a) und Gl. (2.1.1b) zur vektoriellen Helmholtzgleichung umformen:

$$\nabla^2 \mathbf{E} + k^2 \mathbf{E} = 0 \quad (2.1.3a)$$

$$\nabla^2 \mathbf{H} + k^2 \mathbf{H} = 0 \quad (2.1.3b)$$

¹Im folgenden wird diese Zeitabhängigkeit $e^{-i\omega t}$ der Felder als gegeben betrachtet und nicht mehr explizit mitgeschrieben.

Dabei steht ∇^2 für den Vektor-Laplaceoperator. Die Gleichungen (2.1.3) müssen separat im Innen- wie im Außenraum des Partikels erfüllt sein.

An der Oberfläche des Partikels müssen die Tangentialkomponenten des elektrischen und des magnetischen Feldes stetig sein [57, Gl. 3.7], die zu erfüllenden Maxwell-Randbedingungen lauten also

$$\left(\mathbf{E}_{\text{in}} + \mathbf{E}_{\text{str}} - \mathbf{E}_I \right) \times \hat{\mathbf{e}}_r = 0 \quad \text{für } \|\mathbf{r}\| = R \quad (2.1.4a)$$

$$\left(\mathbf{H}_{\text{in}} + \mathbf{H}_{\text{str}} - \mathbf{H}_I \right) \times \hat{\mathbf{e}}_r = 0 \quad \text{für } \|\mathbf{r}\| = R \quad (2.1.4b)$$

Dabei sind \mathbf{E}_{in} und \mathbf{H}_{in} die einfallenden Felder, \mathbf{E}_{str} und \mathbf{H}_{str} die gestreuten Felder und \mathbf{E}_I und \mathbf{H}_I die Felder im Partikelinneren. $\hat{\mathbf{e}}_r$ ist der radiale Einheitsvektor, \mathbf{r} der Ortsvektor und R der Radius des Nanopartikels.

Die Gleichungen (2.1.3) und (2.1.4) wurden zuerst von Ludvig Lorenz [2] und Gustav Mie [3] gelöst. Im Folgenden wird eine moderne Form der Lösung unter Benutzung der sphärischen Vektorwellenfunktionen vorgestellt. Dies geschieht in solcher Weise, dass die Erweiterung auf mehrere Partikel in Abschnitt 2.2.2 leicht zu bewerkstelligen ist. Die Darstellung stützt sich dabei im wesentlichen auf [57–59].

Die sphärischen Vektorwellenfunktionen

Die sphärischen Vektorwellenfunktionen \mathbf{M}_{mn}^j und \mathbf{N}_{mn}^j bilden für $j = 1, 2$ und für $j = 3, 4$ je eine Basis der divergenzfreien Lösungen der vektoriellen Helmholtzgleichung (2.1.3). In sphärischen Koordinaten $\{r, \varphi, \theta\}$ lauten sie

$$\mathbf{M}_{mn}^j = \left(i \pi_{mn}(\cos \theta) \hat{\mathbf{e}}_\theta - \tau_{mn}(\cos \theta) \hat{\mathbf{e}}_\phi \right) z_n^j(kr) e^{im\varphi} \quad (2.1.5a)$$

$$\begin{aligned} \mathbf{N}_{mn}^j &= \frac{1}{k} \nabla \times \mathbf{M}_{mn}^j \\ &= \left(n(n+1) P_n^m(\cos \theta) \frac{z_n^j(kr)}{kr} \hat{\mathbf{e}}_r + \right. \\ &\quad \left. \left(\tau_{mn}(\cos \theta) \hat{\mathbf{e}}_\theta + i \pi_{mn}(\cos \theta) \hat{\mathbf{e}}_\phi \right) \frac{1}{kr} \frac{d}{dr} \left(r z_n^j(kr) \right) \right) e^{im\varphi} \end{aligned} \quad (2.1.5b)$$

Dabei sind $z_n^1 = j_n$ und $z_n^2 = y_n$ die sphärischen Besselfunktionen der ersten und zweiten Art, $z_n^3 = h_n^1$ und $z_n^4 = h_n^2$ die sphärischen Hankelfunktionen der ersten und zweiten Art. P_n^m bezeichnet die assoziierte Legendrefunktion der ersten Art mit Grad $n \in \mathbb{N} \setminus \{0\}$ und Ordnung $m \in \{-n, \dots, n\}$, und π_{mn} und τ_{mn} sind gegeben durch

$$\pi_{mn}(\cos \theta) = \frac{m}{\sin \theta} P_n^m(\cos \theta) \quad \tau_{mn}(\cos \theta) = \frac{d}{d\theta} P_n^m(\cos \theta) \quad (2.1.6)$$

Entwicklung der Felder in sphärischen Vektorwellenfunktionen

Die einfallende Welle mit Amplitude E_0 und das Feld im Inneren des Partikels werden nun nach der Basis $\{M_{mn}^1, N_{mn}^1, M_{mn}^2, N_{mn}^2\}$ entwickelt. Dabei verschwinden die Entwicklungskoeffizienten für M_{mn}^2 und N_{mn}^2 , da die sphärischen Besselfunktionen der zweiten Art und mit ihnen M_{mn}^2 und N_{mn}^2 am Ursprung divergieren, wohingegen sowohl die einfallende Welle als auch das Feld im Partikelinneren am Koordinatenursprung einen endlichen Wert haben. So ergeben sich, wenn man die Normierungskonstanten

$$E_{mn} = i^n (2n+1) \frac{(n-m)!}{(n+m)!} E_0 \quad (2.1.7)$$

eingführt, die Entwicklungen

$$E_{\text{in}} = -i \sum_{n=0}^{\infty} \sum_{m=-n}^n E_{mn} (p_{mn} N_{mn}^1 + q_{mn} M_{mn}^1) \quad (2.1.8a)$$

$$H_{\text{in}} = -\sqrt{\frac{\varepsilon_{\mathcal{A}} \epsilon_0}{\mu_{\mathcal{A}} \mu_0}} \sum_{n=0}^{\infty} \sum_{m=-n}^n E_{mn} (q_{mn} N_{mn}^1 + p_{mn} M_{mn}^1) \quad (2.1.8b)$$

und¹

$$E_I = -i \sum_{n,m} E_{mn} (d_{mn} N_{mn}^1 + c_{mn} M_{mn}^1) \quad (2.1.9a)$$

$$H_I = -\sqrt{\frac{\varepsilon_I \epsilon_0}{\mu_I \mu_0}} \sum_{n,m} E_{mn} (c_{mn} N_{mn}^1 + d_{mn} M_{mn}^1) \quad (2.1.9b)$$

wobei der Index \mathcal{A} für den Außenraum und der Index I für den Innenraum des sphärischen Partikels gewählt worden sind.

Das gestreute Feld wird nach der Basis $\{M_{mn}^3, N_{mn}^3, M_{mn}^4, N_{mn}^4\}$ entwickelt. Hier verschwinden nun die Entwicklungskoeffizienten von M_{mn}^4 und N_{mn}^4 , da diese im Fernfeld eine einlaufende Kugelwelle beschreiben, während das gestreute Feld im Fernfeld den Charakter einer auslaufenden Kugelwelle haben muss. Es ergibt sich also

$$E_{\text{str}} = i \sum_{n,m} E_{mn} (a_{mn} N_{mn}^3 + b_{mn} M_{mn}^3) \quad (2.1.10a)$$

$$H_{\text{str}} = \sqrt{\frac{\varepsilon_{\mathcal{A}} \epsilon_0}{\mu_{\mathcal{A}} \mu_0}} \sum_{n,m} E_{mn} (b_{mn} N_{mn}^3 + a_{mn} M_{mn}^3) \quad (2.1.10b)$$

¹Wir schreiben fortan $\sum_{n=0}^{\infty} \sum_{m=-n}^n$ vereinfacht als $\sum_{n,m}$.

Lösung: die Streukoeffizienten

Die Lösung des Streuproblems besteht nun darin, die Entwicklungskoeffizienten des gestreuten Feldes a_{mn} und b_{mn} in Abhängigkeit von denen des einfallenden Feldes p_{mn} und q_{mn} zu erhalten. Zu diesem Zwecke werden nun die Entwicklungen der Felder in die Gleichungen (2.1.4) der Maxwellrandbedingungen eingesetzt.

Die Lösung dieser Gleichungen nach den Streukoeffizienten a_{mn} und b_{mn} lautet dann

$$a_{mn} = \frac{\mu_{\mathcal{A}} v^2 j_n(vx) \frac{d}{dx}(x j_n(x)) - \mu_I j_n(x) \frac{d}{dx}(vx j_n(vx))}{\mu_{\mathcal{A}} v^2 j_n(vx) \frac{d}{dx}(x h_n^1(x)) - \mu_I h_n^1(x) \frac{d}{dx}(vx j_n(vx))} p_{mn} =: a_n p_{mn} \quad (2.1.11a)$$

$$b_{mn} = \frac{\mu_I j_n(v\rho) \frac{d}{d\rho}(\rho j_n(\rho)) - \mu_{\mathcal{A}} j_n(\rho) \frac{d}{d\rho}(\nu \rho j_n(\nu \rho))}{\mu_I j_n(v\rho) \frac{d}{d\rho}(\rho h_n^1(\rho)) - \mu_{\mathcal{A}} h_n^1(\rho) \frac{d}{d\rho}(\nu \rho j_n(\nu \rho))} q_{mn} =: b_n q_{mn} \quad (2.1.11b)$$

wobei die dimensionslosen Größen

$$\rho = k_{\mathcal{A}} R \quad \nu = \frac{k_I}{k_{\mathcal{A}}} \quad (2.1.12)$$

eingeführt wurden. Die in Gleichung (2.1.11) definierten Größen a_n und b_n werden Mieoeffizienten des Partikels genannt. Ebenso erhält man die uns hier nicht interessierenden Entwicklungskoeffizienten des Feldes im Inneren des Partikels [58, Gl. (13)].

Es sei bemerkt, dass im Gegensatz zur Behandlung in [57] bis hier keine Annahmen hinsichtlich des einfallenden Feldes gemacht worden sind, insbesondere ist nicht angenommen worden, dass es sich beim einfallenden Feld um eine ebene Welle handelt. Dies werden wir uns bei der Verallgemeinerung der Mietheorie auf Systeme mehrerer Partikel in Abschnitt 2.2.2 zunutze machen.

Absorptions-, Streu- und Extinktionsquerschnitte

Die Absorptions-, Streu- und Extinktionsquerschnitte können nun berechnet werden, indem der zeitgemittelte Poynting-Vektor im Außenraum

$$\begin{aligned} S_{\mathcal{A}} &= \frac{1}{2} \Re(\mathbf{E}_{\mathcal{A}} \times \mathbf{H}_{\mathcal{A}}^*) \\ &= \frac{1}{2} \Re((\mathbf{E}_{\text{in}} + \mathbf{E}_{\text{str}}) \times (\mathbf{H}_{\text{in}} + \mathbf{H}_{\text{str}})^*) \\ &= \underbrace{\frac{1}{2} \Re(\mathbf{E}_{\text{in}} \times \mathbf{H}_{\text{in}}^*)}_{S_{\text{in}}} + \underbrace{\frac{1}{2} \Re(\mathbf{E}_{\text{str}} \times \mathbf{H}_{\text{str}}^*)}_{S_{\text{str}}} + \underbrace{\frac{1}{2} \Re(\mathbf{E}_{\text{in}} \times \mathbf{H}_{\text{str}}^* + \mathbf{E}_{\text{str}} \times \mathbf{H}_{\text{in}}^*)}_{S_{\text{ext}}} \end{aligned} \quad (2.1.13)$$

für eine einfallende ebene Welle betrachtet wird. Man erhält die Wirkungsquerschnitte durch Integration der entsprechenden Poynting-Vektoren über eine das Partikel einschließende Sphäre ∂K

2.2 Optische Eigenschaften kleiner Nanopartikelaggregate

und Division durch den einfallenden Lichtstrom $S_{\text{in}} = \frac{1}{2} \sqrt{\varepsilon_{\mathcal{A}} \varepsilon_0 / (\mu_{\mathcal{A}} \mu_0)} |E_0|^2$ [57, 58]:

$$\sigma_{\text{str}} = \frac{1}{S_{\text{in}}} \int_{\partial K} \mathbf{S}_{\text{str}} \cdot \hat{\mathbf{e}}_r \, dA \quad (2.1.14a)$$

$$\sigma_{\text{ext}} = -\frac{1}{S_{\text{in}}} \int_{\partial K} \mathbf{S}_{\text{ext}} \cdot \hat{\mathbf{e}}_r \, dA \quad (2.1.14b)$$

$$\sigma_{\text{abs}} = \sigma_{\text{ext}} - \sigma_{\text{str}} \quad (2.1.14c)$$

Die Koeffizienten der Entwicklung einer x -polarisierten ebenen Welle in Vektorwellenfunktionen lauten [58, Gl. (85)].

$$p_{mn} = \frac{1}{2} \left(\delta_{m-1} - \frac{1}{n(n+1)} \delta_{m+1} \right) \quad (2.1.15a)$$

$$q_{mn} = \frac{1}{2} \left(\delta_{m-1} + \frac{1}{n(n+1)} \delta_{m+1} \right) \quad (2.1.15b)$$

Damit ergeben sich durch Einsetzen der Entwicklungen (2.1.8) für die einfallende Welle und (2.1.10) für die gestreute Welle in Gl. (2.1.14) die Wirkungsquerschnitte in Abhängigkeit von den Miekoefizienten (2.1.11) zu

$$\sigma_{\text{str}} = \frac{2\pi}{k^2} \sum_n (2n+1) (|a_n|^2 + |b_n|^2) \quad (2.1.16a)$$

$$\sigma_{\text{ext}} = \frac{2\pi}{k^2} \sum_n (2n+1) \Re(a_n + b_n) \quad (2.1.16b)$$

$$\sigma_{\text{abs}} = \sigma_{\text{ext}} - \sigma_{\text{str}} \quad (2.1.16c)$$

Die nach diesen Formeln berechneten Wirkungsquerschnitte für ein Goldpartikel mit 40 nm Durchmesser in Wasser sind in Abb. 2.1c dargestellt.

2.2 Optische Eigenschaften kleiner Nanopartikelaggregate

2.2.1 Gekoppelte Partikelplasmonen

Wie zu Anfang des Kapitels erläutert ändert ein metallisches Nanopartikel die lokale elektrische Feldstärke in seiner Umgebung. Innerhalb eines Radius von der Größenordnung des Nanopartikeldurchmessers (vgl. Abb. 2.1b) erreicht sein Streufeld ein Mehrfaches der Amplitude der einfallenden Welle. Werden nun zwei oder mehr Nanopartikel einander so weit angenähert, dass ihr Abstand kleiner wird als ihre Abmessungen, so führt dies dazu, dass das Nahfeld eines Nanopartikels die Plasmonoszillation der benachbarten Partikel beeinflusst: die Plasmonen der Partikel koppeln. Diese Kopplung der Plasmonen kann mit der Hybridisierung der elektronischen Niveaus zweier Atome zu den gemeinsamen Niveaus eines Moleküls verglichen werden [60].

Alternativ kann man die Plasmonenkopplung als Kopplung zwischen zwei Dipolen veranschaulichen. Dies wird hier kurz für ein Dimer aus zwei gleich großen Nanopartikeln desselben Materials mit $\mu_{\mathcal{A}} = \mu_{\mathcal{I}} = 1$ demonstriert, um die wesentlichen qualitativen Einsichten zu erhalten. Im folgenden Abschnitt wird dann die Mie-theoretische Beschreibung auf Systeme mehrerer Nanopartikel erweitert, um auch eine quantitative Berechnung der optischen Eigenschaften eines Nanopartikelaggregats zu ermöglichen.

Quasistatische Dipolnäherung

Das Streufeld von Nanopartikeln, deren Abmessungen wesentlich kleiner als die Wellenlänge sind, hat überwiegend dipolaren Charakter. Dies ist intuitiv einleuchtend und kann z. B. auch gezeigt werden, indem man die Mieoeffizienten Gl. (2.1.11) für kleine Größenparameter ρ entwickelt [57, Kap. 5]. Beschränkt man sich auf ein Gebiet, dessen Abmessungen wesentlich kleiner als die Wellenlänge des einfallenden Lichtes sind, so kann man das Feld im Außenraum eines am Ort \mathbf{r}_i befindlichen Nanopartikels näherungsweise als statisches Dipolfeld beschreiben

$$\mathbf{E}_{dip,i}(\mathbf{r}) = \frac{3 \left(\frac{\mathbf{r} - \mathbf{r}_i}{\|\mathbf{r} - \mathbf{r}_i\|} \cdot \mathbf{p}_i \right) \frac{\mathbf{r} - \mathbf{r}_i}{\|\mathbf{r} - \mathbf{r}_i\|} - \mathbf{p}_i}{4\pi\epsilon_{\mathcal{A}}\epsilon_0\|\mathbf{r} - \mathbf{r}_i\|^3} \quad (2.2.1)$$

wobei \mathbf{p}_i das durch die Polarisierung des Partikels hervorgerufene Dipolmoment bezeichnet.

Dipolkopplung

Nun beeinflusst das von jedem der beiden Nanopartikel ausgehende Dipolfeld die Polarisierung des anderen. Es muss also gelten

$$\mathbf{p}_1 = \alpha_E \epsilon_{\mathcal{A}} \epsilon_0 \left(\mathbf{E}_{in}(\mathbf{r}_1) + \mathbf{E}_{dip,2}(\mathbf{r}_1) \right) \quad (2.2.2a)$$

$$\mathbf{p}_2 = \alpha_E \epsilon_{\mathcal{A}} \epsilon_0 \left(\mathbf{E}_{in}(\mathbf{r}_2) + \mathbf{E}_{dip,1}(\mathbf{r}_2) \right) \quad (2.2.2b)$$

Hierbei ist α_E die Dipolpolarisierbarkeit eines einzelnen Partikels¹.

Die Situation ist in Abb. 2.2 dargestellt. Je nach Polarisation des einfallenden Feldes verstärkt oder schwächt das Dipolfeld des einen Partikels das einfallende Feld am Ort des anderen. Ist die Polarisation des einfallenden Feldes senkrecht zur Dimerachse, so wirken die Felder der induzierten Dipole dem einfallenden Feld entgegen, in diesem Fall spricht man von der transversalen Mode des Dimers. Ist \mathbf{E}_{in} parallel zur Achse des Dimers, so verstärken die induzierten Dipole das einfallende Feld. Man spricht von der longitudinalen Mode des Dimers.

¹mit der Dimension eines Volumens

2.2 Optische Eigenschaften kleiner Nanopartikelaggregate

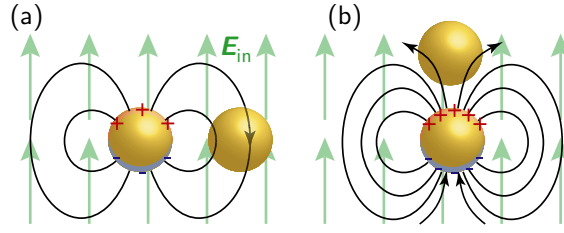


Abbildung 2.2: Kopplung zweier Nanopartikelplasmonen, Schema. (a) Transversale Mode. Die Dimerachse steht senkrecht auf dem Vektor des einfallenden elektrischen Feldes. Das Feld des einen polarisierten Nanopartikels wirkt am Ort des anderen Nanopartikels dem einfallenden Feld entgegen. Dies hat eine geringere Polarisierbarkeit der Nanopartikel zur Folge. **(b) Longitudinale Mode.** Die Dimerachse verläuft parallel zum Vektor des elektrischen Feldes. Das Feld des einen polarisierten Nanopartikels verstärkt am Ort des anderen Nanopartikels das einfallende Feld. Dies hat eine erhöhte Polarisierbarkeit der Nanopartikel zur Folge.

Transversale und longitudinale Resonanzen eines Dimers

Löst man nun das Gleichungssystem (2.2.2) unter der für $\lambda \gg \|r_1 - r_2\|$ gerechtfertigten Annahme $E_{\text{in}}(r_1) \approx E_{\text{in}}(r_2) =: E_{\text{in}}$, so erhält man die Polarisierbarkeit des Dimers α_D aus

$$p_1 + p_2 = \alpha_D \varepsilon_{\mathcal{A}} \varepsilon_0 E_{\text{in}} \quad (2.2.3)$$

zunächst zu

$$\alpha_D = 2\alpha_E \left/ \left(1 - \frac{\alpha_E \tau}{4\pi d^3} \right) \right. \quad (2.2.4)$$

wobei der Abstand der Mittelpunkte der Nanopartikel $d = \|r_1 - r_2\|$ eingeführt wurde und $\tau = 2$ für die longitudinale Mode und $\tau = -1$ für die transversale Mode einzusetzen ist.

Um dieses Ergebnis besser zu verstehen, modellieren wir jedes der Nanopartikel und ihre gemeinsame Umgebung auf die einfachstmögliche Weise: Für die Umgebung setzen wir $\varepsilon_{\mathcal{A}} = 1$, und für das Nanopartikel verwenden wir die dielektrische Funktion eines Drudemetalles $\varepsilon_I(\omega) = 1 - \omega_p^2 / (\omega^2 + i\Gamma\omega)$ mit Plasmafrequenz ω_p und Dämpfung Γ [53]. Dies setzen wir in die Clausius-Mosotti-Polarisierbarkeit $\alpha_E = 4\pi R^3 (\varepsilon_I - \varepsilon_{\mathcal{A}}) / (\varepsilon_I + 2\varepsilon_{\mathcal{A}})$ [53] ein und diese wiederum in Gleichung (2.2.4).

Als Frequenzen maximaler Polarisierbarkeit des Einzelpartikels $|\alpha_E|$ bzw. des Dimers $|\alpha_D|$ ergeben sich dann

$$\omega_E = \sqrt{\frac{\omega_p^2}{3} - \frac{\Gamma^2}{2}} \quad (\text{Einzelpartikel}) \quad (2.2.5a)$$

$$\omega_D(\tau) = \sqrt{\omega_E^2 - \tau \left(\frac{R}{d} \right)^3 \frac{\omega_p^2}{3}} \quad (\text{Dimer}) \quad (2.2.5b)$$

Das heißt, die transversale Resonanz mit $\tau = -1$ ist, wie in Abb. 2.3a dargestellt, gegenüber

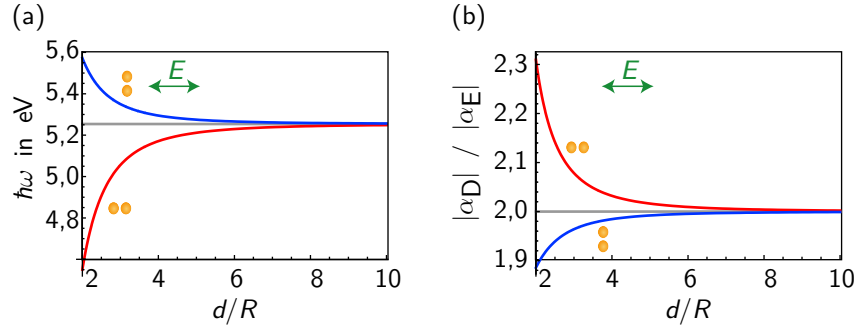


Abbildung 2.3: Gekoppelte Plasmonresonanzen eines Drudedimers in Abhängigkeit vom Abstand, quasistatische Dipolnäherung. (a) Resonanzfrequenzen. Berechnet nach Gl. (2.2.5) für ein Dimer aus zwei identischen Nanopartikeln, die aus einem Drudematerial mit $\hbar\omega_p = 9,1$ eV und $\hbar\Gamma = 40$ meV bestehen und von Luft umgeben sind. Die Resonanz der longitudinalen Mode (rot) verschiebt sich ins Rote, die der transversalen Mode (blau) verschiebt sich ins Blaue. Die Resonanzfrequenz der longitudinalen Mode ist empfindlicher auf Abstandsänderungen. **(b) Absolutbetrag der Polarisierbarkeit** bei der Resonanzfrequenz. Die Polarisierbarkeit des Dimers ist in der longitudinalen Mode (rot) größer und in der transversalen Mode (blau) kleiner als die zweier ungekoppelter Nanopartikel (grau), vgl. Abb. 2.2.

der Einzelpartikelresonanz blauverschoben, während die longitudinale Resonanz mit $\tau = 2$ gegenüber der Einzelpartikelresonanz rotverschoben ist. Für große Abstände d erhält man durch Entwicklung der Wurzel in Gl. (2.2.5b)

$$|\omega_D - \omega_E| \sim d^{-3} \quad \text{für } d \rightarrow \infty \quad (2.2.6)$$

Bei großen Partikelabständen d gilt allerdings die quasistatische Näherung nicht, so dass dieses Ergebnis nur von geringem Wert ist. Für die Maximalpolarisierbarkeit ergibt sich kein einfacher Ausdruck. Durch Einsetzen von Zahlenwerten, wie in Abb. 2.3b geschehen, sieht man aber, dass die Polarisierbarkeit des Dimers in der longitudinalen Mode größer und in der transversalen Mode kleiner ist als die zweier ungekoppelter Nanopartikel.

2.2.2 Verallgemeinerte Mie-Theorie

Im vorangehenden Abschnitt konnte in der quasistatischen Dipolnäherung für zwei gleiche Partikel aus einem Drudematerial in Luft gezeigt werden, wie sich die Kopplung der Plasmonen in einem Dimer auf die optischen Eigenschaften des Systems auswirkt: die Plasmonresonanz wird polarisationsabhängig. In der longitudinale Mode ist sie, verglichen mit den ungekoppelten Plasmonen der beiden Nanopartikel, rotverschoben und verstärkt, in der transversalen Mode aber blauverschoben und abgeschwächt.

Im folgenden soll nun gezeigt werden, wie Streufeld sowie Streu- und Absorptionsquerschnitt vieler beliebig angeordneter Partikel aus im allgemeinen verschiedenen Materialien und mit verschiedenen Radien, die in ein nicht absorbierendes Medium eingebettet sind, exakt berechnet

2.2 Optische Eigenschaften kleiner Nanopartikelaggregate

werden können. Es wird dabei lediglich vorausgesetzt, dass die Partikel sphärisch sind und ebenso wie das einbettende Medium durch eine skalare dielektrische Funktion beschrieben werden können. Es sei darauf hingewiesen, dass die Lösung ‚voll retardiert‘ ist, d. h. es wird an keiner Stelle die durch die Wellenpropagation bedingte räumliche Änderung der Phase vernachlässigt. Eine Implementierung des hier vorgestellten Lösungswegs als Computerprogramm GMM-FIELD wird in Anhang A beschrieben, numerische Ergebnisse für Dimere werden in Abschnitt 2.3 gezeigt.

Im wesentlichen sind bereits in Abschnitt 2.1.2 die grundlegenden Konzepte eingeführt worden. Die dort erläuterte Lösung der Maxwellgleichungen im Innen- und Außenraum eines einzelnen sphärischen Partikels wird nun Xu [58, 59] folgend lediglich auf den Fall beliebig vieler Partikel erweitert. Es werden wie zuvor die Maxwellgleichungen (2.1.1) gelöst, indem die einfallenden Felder, die Felder im Partikelinneren und die gestreuten Felder in sphärischen Vektorwellenfunktionen entwickelt werden, um dann aus den Maxwellrandbedingungen an der Partikeloberfläche die Entwicklungskoeffizienten der gestreuten Felder in Abhängigkeit von den Entwicklungskoeffizienten der einfallenden Felder zu erhalten.

Die Partikel werden mit griechischen Kleinbuchstaben durchindiziert, um die Einführung der folgenden partikelabhängigen Größen zu ermöglichen:

$$\begin{aligned} E_I &\rightarrow E_I^\beta & H_I &\rightarrow H_I^\beta & E_{\text{str}} &\rightarrow E_{\text{str}}^\beta & H_{\text{str}} &\rightarrow H_{\text{str}}^\beta \\ a_{mn} &\rightarrow a_{mn}^\beta & b_{mn} &\rightarrow b_{mn}^\beta & c_{mn} &\rightarrow c_{mn}^\beta & d_{mn} &\rightarrow d_{mn}^\beta \\ a_n &\rightarrow a_n^\beta & b_n &\rightarrow b_n^\beta & \rho &\rightarrow \rho^\beta & \nu &\rightarrow \nu^\beta & R &\rightarrow R^\beta \end{aligned} \quad (2.2.7)$$

Außerdem schreiben wir

$$M_{mn}^{j\beta} := M_{mn}^j(r_\beta, \varphi_\beta, \theta_\beta) \quad \text{und} \quad (2.2.8a)$$

$$N_{mn}^{j\beta} := N_{mn}^j(r_\beta, \varphi_\beta, \theta_\beta) \quad (2.2.8b)$$

für die sphärischen Vektorwellenfunktionen bezüglich der am Ort \mathbf{r}_0^β des Partikels mit dem Index β zentrierten Kugelkoordinaten $\{r_\beta, \varphi_\beta, \theta_\beta\}$. Wenn wir die Ersetzungen (2.2.7) und $M_{mn}^j \rightarrow M_{mn}^{j\beta}$ sowie $N_{mn}^j \rightarrow N_{mn}^{j\beta}$ vornehmen, gelten die Entwicklungen der inneren und der gestreuten Felder Gl. (2.1.9) und Gl. (2.1.10) für jedes Partikel β in unveränderter Form.

Der wesentliche Unterschied zum Ein-Partikel-Fall kommt nun dadurch zustande, dass das totale einfallende Feld am Partikel β nicht mehr nur aus der von außen einfallenden Welle, sondern zusätzlich aus den gestreuten Feldern der anderen Partikel besteht. Wir ersetzen also in Entwicklung (2.1.8)

$$E_{\text{in}} \rightarrow E_{\text{in}}^\beta = E_{\text{in}} + \sum_{\gamma \neq \beta} E_{\text{str}}^\gamma \quad (2.2.9a)$$

$$H_{\text{in}} \rightarrow H_{\text{in}}^\beta = H_{\text{in}} + \sum_{\gamma \neq \beta} H_{\text{str}}^\gamma \quad (2.2.9b)$$

Die Hauptschwierigkeit besteht nun darin, für ein Partikel β die totalen einfallenden Felder E_{in}^β und H_{in}^β gemäß Gl. (2.1.8) in den sphärischen Vektorwellenfunktionen $M_{mn}^{1\beta}$ und $N_{mn}^{1\beta}$ zu entwickeln, d. h. eine Abhängigkeit der Form

$$p_{mn}^\beta = p_{mn}^\beta(r_0^\beta, p_{mn}^{0\beta}, q_{mn}^{0\beta}, r_0^{\gamma\neq\beta}, a_{mn}^{\gamma\neq\beta}, b_{mn}^{\gamma\neq\beta}) \quad (2.2.10a)$$

$$q_{mn}^\beta = q_{mn}^\beta(r_0^\beta, p_{mn}^{0\beta}, q_{mn}^{0\beta}, r_0^{\gamma\neq\beta}, a_{mn}^{\gamma\neq\beta}, b_{mn}^{\gamma\neq\beta}) \quad (2.2.10b)$$

zu konstruieren, wobei $p_{mn}^{0\beta}$ und $q_{mn}^{0\beta}$ die Entwicklungskoeffizienten der von außen einfallenden Welle bezüglich der zu Partikel β gehörigen Vektorwellenfunktionen sind. Gelingt dies, so ergeben die Maxwellrandbedingungen Gl. (2.1.4) für jedes Partikel β ein Paar von Gleichungen der Form Gl. (2.1.11), das die Entwicklungskoeffizienten der von Partikel β gestreuten elektrischen und magnetischen Felder a_{mn}^β und b_{mn}^β mit den Entwicklungskoeffizienten der gestreuten Felder der anderen Partikel $a_{mn}^{\gamma\neq\beta}$ und $b_{mn}^{\gamma\neq\beta}$ und den Entwicklungskoeffizienten des einfallenden Feldes $p_{mn}^{0\beta}$ und $q_{mn}^{0\beta}$ verbindet. Die Lösung des resultierenden Gleichungssystems liefert dann alle Streukoeffizienten a_{mn}^β und b_{mn}^β in Abhängigkeit von den Entwicklungskoeffizienten der einfallenden Welle $p_{mn}^{0\beta}$ und $q_{mn}^{0\beta}$, von den Radien R^β , von der Anordnung der Partikel ausgedrückt durch die r_0^β und von den Materialeigenschaften ausgedrückt durch die Permissivitäten und Permeabilitäten der Partikel und des einbettenden Mediums. Hat man die Streukoeffizienten a_{mn}^β und b_{mn}^β , so kann man aus diesen das gesamte gestreute Feld und daraus wiederum das vollständige Feld im Außen- und Zwischenraum der Partikel sowie Streu- und Absorptionsquerschnitte gemäß Gleichung (2.1.14) berechnen.

Das Problem, das durch Gl. (2.2.9) gegebene gesamte einfallende Feld am Partikel β in dessen Koordinatensystem bezüglich der Vektorwellenfunktionen zu entwickeln, also den Zusammenhang Gl. (2.2.10) herzustellen, lässt sich in zwei Teile aufspalten: erstens die Entwicklung der einfallenden Welle E_{in} und H_{in} und zweitens die Entwicklung der Streufelder E_{str}^γ und H_{str}^γ der anderen Partikel.

Entwicklung der einfallenden Welle E_{in} , H_{in}

Als wichtiges Beispiel für den ersten Teil betrachten wir eine einfallende ebene Welle mit Wellenvektor $k_{\mathcal{A}}$. In Abschnitt 5.2 wird darüber hinaus die Entwicklung des von einem oszillierenden Dipol emittierten Feldes hergeleitet. Für die ebene Welle nutzen wir die Entwicklung Gl. (2.1.15) bezüglich des Koordinatensystems eines beliebigen einzelnen Partikels, wir wählen hier das Partikel mit Index 1. In dieser Darstellung habe die ebene Welle die Entwicklungskoeffizienten p_{mn}^{01} und q_{mn}^{01} bezüglich der Vektorwellenfunktionen M_{mn}^{11} und N_{mn}^{11} . Nun gilt aber

$$E_{\text{in}}(r_0^\gamma) = E_{\text{in}}(r_0^1) \exp(ik_{\mathcal{A}} \cdot (r_0^\gamma - r_0^1)) \quad (2.2.11)$$

und damit erhält man die Entwicklungskoeffizienten $p_{mn}^{0\gamma}$ und $q_{mn}^{0\gamma}$ bezüglich $M_{mn}^{1\gamma}$ und $N_{mn}^{1\gamma}$ zu

$$p_{mn}^{0\gamma} = p_{mn}^{01} \exp(ik_{\mathcal{A}} \cdot (r_0^\gamma - r_0^1)) \quad \text{und} \quad q_{mn}^{0\gamma} = q_{mn}^{01} \exp(ik_{\mathcal{A}} \cdot (r_0^\gamma - r_0^1)) \quad (2.2.12)$$

2.2 Optische Eigenschaften kleiner Nanopartikelaggregate

Entwicklung der Streufelder E_{str}^γ , H_{str}^γ der anderen Partikel

Die Entwicklung der Streufelder der anderen Partikel beruht auf der Entwicklung der Vektorwellenfunktionen $M_{\tilde{m}\tilde{n}}^{3\gamma}$ und $N_{\tilde{m}\tilde{n}}^{3\gamma}$ bezüglich $M_{mn}^{1\beta}$ und $N_{mn}^{1\beta}$. Diese Entwicklung wurde zum ersten Mal von Stein [61] und Cruzan [62] erfolgreich durchgeführt. Die Koeffizienten dieser Entwicklung, die sogenannten Translationskoeffizienten, die den aus der quantenmechanischen Drehimpulskopplung bekannten Clebsch-Gordan-Koeffizienten verwandt sind, seien mit $\mathfrak{A}_{mn}^{\tilde{m}\tilde{n}}(\mathbf{r}_0^\beta - \mathbf{r}_0^\gamma)$ sowie $\mathfrak{B}_{mn}^{\tilde{m}\tilde{n}}(\mathbf{r}_0^\beta - \mathbf{r}_0^\gamma)$ bezeichnet. Wenn man sodann

$$A_{mn}^{\tilde{m}\tilde{n}}(\mathbf{r}_0^\beta - \mathbf{r}_0^\gamma) := \frac{E_{\tilde{m}\tilde{n}}}{E_{mn}} \mathfrak{A}_{mn}^{\tilde{m}\tilde{n}}(\mathbf{r}_0^\beta - \mathbf{r}_0^\gamma) \quad (2.2.13a)$$

und

$$B_{mn}^{\tilde{m}\tilde{n}}(\mathbf{r}_0^\beta - \mathbf{r}_0^\gamma) := \frac{E_{\tilde{m}\tilde{n}}}{E_{mn}} \mathfrak{B}_{mn}^{\tilde{m}\tilde{n}}(\mathbf{r}_0^\beta - \mathbf{r}_0^\gamma) \quad (2.2.13b)$$

setzt, so erhält man die Entwicklungskoeffizienten $p_{mn}^{\gamma\beta}$ und $q_{mn}^{\gamma\beta}$ der gestreuten Felder E_{str}^γ und H_{str}^γ bezüglich $M_{mn}^{1\beta}$ und $N_{mn}^{1\beta}$ für $\gamma \neq \beta$ zu

$$p_{mn}^{\gamma\beta} = - \sum_{\tilde{n}=1}^{\infty} \sum_{\tilde{m}=-\tilde{n}}^{\tilde{n}} a_{\tilde{m}\tilde{n}}^\gamma A_{mn}^{\tilde{m}\tilde{n}}(\mathbf{r}_0^\beta - \mathbf{r}_0^\gamma) + b_{\tilde{m}\tilde{n}}^\gamma B_{mn}^{\tilde{m}\tilde{n}}(\mathbf{r}_0^\beta - \mathbf{r}_0^\gamma) \quad (2.2.14a)$$

$$q_{mn}^{\gamma\beta} = - \sum_{\tilde{n}=1}^{\infty} \sum_{\tilde{m}=-\tilde{n}}^{\tilde{n}} a_{\tilde{m}\tilde{n}}^\gamma B_{mn}^{\tilde{m}\tilde{n}}(\mathbf{r}_0^\beta - \mathbf{r}_0^\gamma) + b_{\tilde{m}\tilde{n}}^\gamma A_{mn}^{\tilde{m}\tilde{n}}(\mathbf{r}_0^\beta - \mathbf{r}_0^\gamma) \quad (2.2.14b)$$

Entwicklung des gesamten einfallenden Feldes E_{in}^β , H_{in}^β

Die Entwicklung des gesamten einfallenden Feldes ergibt sich nun zu

$$E_{\text{in}}^\beta = -i \sum_{n,m} E_{mn} (p_{mn}^\beta N_{mn}^{1\beta} + q_{mn}^\beta M_{mn}^{1\beta}) \quad (2.2.15a)$$

$$H_{\text{in}}^\beta = - \sqrt{\frac{\varepsilon_{\mathcal{A}} \epsilon_0}{\mu_{\mathcal{A}} \mu_0}} \sum_{n,m} E_{mn} (q_{mn}^\beta N_{mn}^{1\beta} + p_{mn}^\beta M_{mn}^{1\beta}) \quad (2.2.15b)$$

mit

$$p_{mn}^\beta = p_{mn}^{0\beta} + \sum_{\gamma \neq \beta} p_{mn}^{\gamma\beta} \quad \text{und} \quad (2.2.16a)$$

$$q_{mn}^\beta = q_{mn}^{0\beta} + \sum_{\gamma \neq \beta} q_{mn}^{\gamma\beta} \quad (2.2.16b)$$

gemäß Gl. (2.2.12) und Gl. (2.2.14).

Streukoeffizienten

Mit den in den vorhergehenden Abschnitten hergeleiteten Entwicklungskoeffizienten p_{mn}^β und q_{mn}^β ergibt sich analog zu (2.1.11) das Gleichungssystem

$$a_{mn}^\beta = a_n^\beta p_{mn}^\beta = a_n^\beta \left(p_{mn}^{0\beta} - \sum_{\substack{\gamma \neq \beta \\ \tilde{n}, \tilde{m}}} (a_{mn}^\gamma A_{mn}^{\tilde{m}\tilde{n}}(r_0^\beta - r_0^\gamma) + b_{mn}^\gamma B_{mn}^{\tilde{m}\tilde{n}}(r_0^\beta - r_0^\gamma)) \right) \quad (2.2.17a)$$

$$b_{mn}^\beta = b_n^\beta q_{mn}^\beta = b_n^\beta \left(q_{mn}^{0\beta} - \sum_{\substack{\gamma \neq \beta \\ \tilde{n}, \tilde{m}}} (a_{mn}^\gamma B_{mn}^{\tilde{m}\tilde{n}}(r_0^\beta - r_0^\gamma) + b_{mn}^\gamma A_{mn}^{\tilde{m}\tilde{n}}(r_0^\beta - r_0^\gamma)) \right) \quad (2.2.17b)$$

Die Lösung dieses Gleichungssystems mit den Unbekannten a_{mn}^β und b_{mn}^β in Abhängigkeit von den Mieoeffizienten der Partikel a_n^β und b_n^β , den Entwicklungskoeffizienten $p_{mn}^{0\beta}$ und $q_{mn}^{0\beta}$ der einfallenden Welle und den Translationskoeffizienten $A_{mn}^{\tilde{m}\tilde{n}}(r_0^\beta - r_0^\gamma)$ und $B_{mn}^{\tilde{m}\tilde{n}}(r_0^\beta - r_0^\gamma)$ stellt die Lösung des Streuproblems dar. Verschiedene Methoden zur numerischen Lösung des Gleichungssystems sind in der Literatur vorgeschlagen worden. Die Entwicklungen werden immer bei einem geeignet gewählten n_{\max} bzw. \tilde{n}_{\max} abgebrochen, wobei die Konvergenz der Reihen nach unterschiedlichen Kriterien beurteilt wird. Die numerische Schwierigkeit liegt darin, eine in der Regel große Zahl der Translationskoeffizienten $A_{mn}^{\tilde{m}\tilde{n}}$ und $B_{mn}^{\tilde{m}\tilde{n}}$ in vertretbarer Zeit zu berechnen. Eine schnelle Implementierung wird in Anhang A vorgestellt.

Totale gestreute Felder, Streu- und Absorptionsquerschnitt

Ist das Gleichungssystem (2.2.17) gelöst, so können die totalen gestreuten elektrischen und magnetischen Felder als Summe der Einzelstreufelder konstruiert werden.

$$E_{\text{str}}^{\text{tot}}(\mathbf{r}) = \sum_{\beta} E_{\text{str}}^{\beta}(\mathbf{r}) \quad H_{\text{str}}^{\text{tot}}(\mathbf{r}) = \sum_{\beta} H_{\text{str}}^{\beta}(\mathbf{r}) \quad (2.2.18)$$

Die partiellen Streufelder $E_{\text{str}}^{\beta}(\mathbf{r})$ und $H_{\text{str}}^{\beta}(\mathbf{r})$ berechnen sich dabei aus den Streukoeffizienten gemäß Gl. (2.1.10). Die Summation der totalen Streufelder und der einfallenden Felder E_{in} beziehungsweise H_{in} liefert die tatsächlich herrschenden elektrischen und magnetischen Felder im Außen- und Zwischenraum der Partikel. Aus diesen lassen sich mit Hilfe der Gleichungen (2.1.14) Streu-, Absorptions- und Extinktionsquerschnitt der Partikelansammlung berechnen. Die Integrale können dabei symbolisch ausgeführt werden. Die expliziten Ausdrücke für die Wirkungsquerschnitte in Abhängigkeit von den Koeffizienten der einfallenden Welle und den Streukoeffizienten finden sich in [63] und [64]. Aus den leicht abgewandelten Gleichungen (5.2.8) und (5.2.9) in Kapitel 5 dieser Arbeit lassen sie sich durch Anwendung von Gl. (5.2.6) unmittelbar zurückerhalten.

2.2.3 Andere Methoden zur Lösung des Streuproblems

Die verallgemeinerte Mie-Theorie ist die exakte Lösung der Maxwellgleichungen für eine Ansammlung isotroper, kugelförmiger Partikel. Damit ist sie die genaueste und zugleich auch die schnellste Methode, um das Streuproblem für eine derartige Geometrie zu lösen. Genau diese Tatsache, dass es möglich ist, die Maxwellgleichungen für den Fall kugelförmiger Partikel exakt zu lösen, war entscheidend dafür, dass Systeme aus sphärischen Partikeln in dieser Arbeit experimentell untersucht wurden und auch von anderen Gruppen erforscht werden.

Es ist jedoch wahrscheinlich, dass im Zuge der Fortsetzung der hier beschriebenen Forschung auch das Interesse besteht, Systeme zu untersuchen, die nicht aus kugelförmigen Partikeln bestehen. Hierzu steht eine Vielzahl approximativer Methoden zur Verfügung. Besondere Bedeutung gewonnen haben unter diesen in jüngerer Zeit die Diskrete Dipolapproximation¹ [65], die Methode mehrerer Multipole² [66, und Referenzen darin] und die direkte Lösung der Maxwellgleichungen mit der Finite Difference Time Domain Methode³ (FDTD) [67, und Referenzen darin]. Ein ausführlicher Vergleich dieser Methoden würde den Rahmen der vorliegenden Arbeit sprengen und ist für diese auch nicht relevant, da hier nur Systeme betrachtet werden, für die in der Gestalt der verallgemeinerten Mie-Theorie eine exakte Lösung vorliegt. Deshalb sei an dieser Stelle nur auf die einschlägigen Übersichtsartikel [68] und [69] hingewiesen. Lediglich auf die Diskrete Dipolapproximation möchte ich kurz eingehen. Diese Methode wird oftmals, z. B. in [70, 71], zur Berechnung plasmonischer Nanostrukturen verwendet, ist dazu meines Erachtens jedoch ungeeignet.

Die Diskrete Dipolapproximation beruht darauf, das streuende und absorbierende Objekt durch eine Anordnung von Dipolen zu beschreiben. Die Lösung des Streuproblems erfolgt dann vergleichbar zur in Abschnitt 2.2.1 vorgestellten Behandlung der Kopplung zweier Dipole, indem das lineare Gleichungssystem gelöst wird, das die Kopplung zwischen den Dipolen untereinander und an das einfallende Feld beschreibt. Hierbei wird im Unterschied zu Abschnitt 2.2.1 der Retardierung Rechnung getragen.

Die Approximierung des Streuers durch diskrete Dipole ist laut den Autoren von DDSCAT nur für schwach brechende, schwach absorbierende Materialien, für die

$$|\sqrt{\varepsilon_I}/\sqrt{\varepsilon_A} - 1| < 1 \quad (2.2.19)$$

gilt [72], eine gute Näherung. Selbst für Systeme, die diese Bedingung erfüllen, ist die Genauigkeit der Ergebnisse begrenzt [73]. Für Metalle aber ist die Ungleichung (2.2.19) schlichtweg nicht erfüllt. Für Gold in Luft bei 520 nm ist $|\sqrt{\varepsilon_{Au}} - 1| = 2,1$. Für Gold in Wasser liegt der entsprechende Wert immer noch bei 1,6. Die Diskrete Dipolapproximation ist daher für die Berechnung der

¹Die DDA-Implementierung „DDSCAT“ ist unter <http://purl.org/NET/ddscat/current> inklusive Quelltext kostenlos erhältlich.

²Das Windows-Programm „3D MMP“ kann kostenlos von <http://purl.org/NET/MMP> bezogen werden (kein Quelltext).

³Die GPL-lizenzierte FDTD-Implementierung „Meep“ ist unter <http://purl.org/NET/meep> erhältlich.

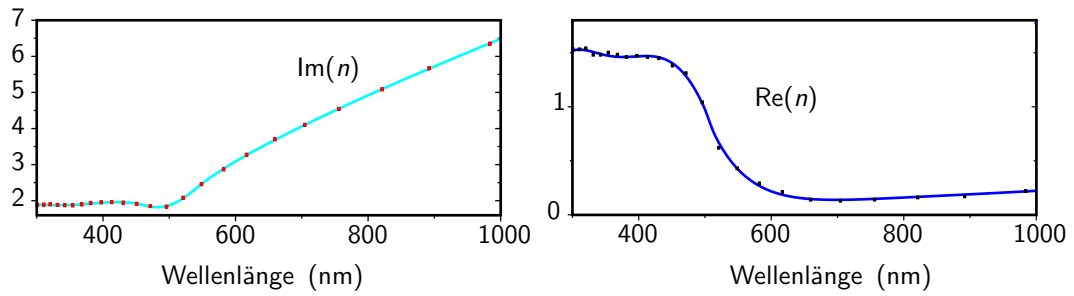


Abbildung 2.4: Komplexer Brechungsindex von Gold nach [48]. Die als Kästchen eingezeichneten Datenpunkte sind die Messwerte aus [48], die durchgezogenen Linien stellen die in dieser Arbeit verwendete, den Datenpunkten angepasste glatte Funktion dar.

optischen Eigenschaften kleiner Aggregate metallischer Nanopartikel ungeeignet. Hingegen kann sie erfolgreich für die sehr verschiedene Problemstellung angewandt werden, näherungsweise den Absorptionsquerschnitt großer Aggregate mit vielen tausend Partikeln zu berechnen, wobei dann nicht mehr jedes Nanopartikel in Dipole zerlegt wird, sondern ein Dipol genutzt wird, um eine Einheitszelle des Aggregates zu modellieren [74]. Die Aggregats-Einheitszelle umfasst dabei ein ganzes Nanopartikel und seine direkte Umgebung. Die effektive dielektrische Funktion dieser Einheitszelle erfüllt Bedingung (2.2.19) [75].

2.3 Die durchstimmbare Resonanz des Nanopartikeldimers

In Abschnitt 2.2.1 wurde qualitativ erläutert, wie die Plasmonen zweier Goldnanopartikel in einem Dimer koppeln, wie dadurch zwei neue Resonanzen, die transversale und die longitudinale Resonanz, entstehen, und dass Polarisierbarkeit und Resonanzfrequenz der longitudinalen Resonanz stark vom Abstand abhängen. Wir wollen nun mit Hilfe der in Abschnitt 2.2.2 eingeführten verallgemeinerten Mie-Theorie quantitativ berechnen, wie sich die abstandsabhängige Plasmonkopplung auf Streuspektrum und Nahfeld eines Nanopartikeldimers auswirkt.

Wir betrachten zwei sphärische Goldnanopartikel mit Radius $R = 20$ nm in Wasser. Die elektromagnetischen Eigenschaften der Goldnanopartikel werden mit dem experimentell bestimmten komplexen Brechungsindex $\sqrt{\epsilon_{\text{Au}}}$ von Johnson und Christie [48] beschrieben. Den diskreten Datenpunkten aus [48] für Realteil und Imaginärteil des komplexen Brechungsindex wurden, wie in Abb. 2.4 gezeigt, stückweise Polynome fünften Grades angepasst.

2.3.1 Fernfeld – elastische Lichtstreuung

Abbildung 2.5a zeigt das Streuspektrum der longitudinalen Mode eines Nanopartikeldimers abhängig vom Abstand zwischen den Partikeln. In Abbildung 2.5b und c sind die Wellenlänge λ_{max} , bei der das Streumaximum auftritt, und der jeweilige maximale Streuquerschnitt gegen den Abstand der Partikel aufgetragen.

2.3 Die durchstimmbare Resonanz des Nanopartikeldimers

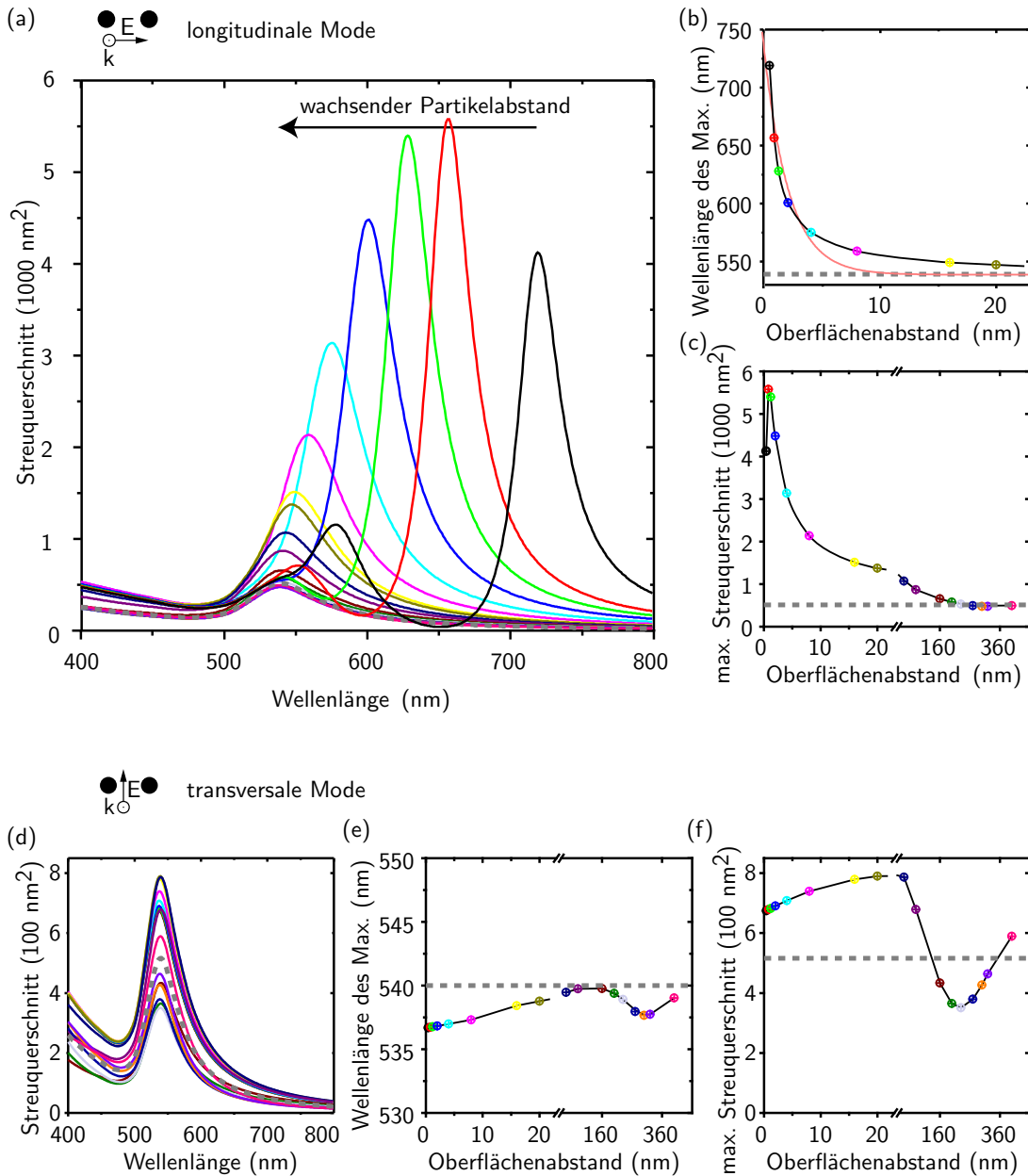


Abbildung 2.5: Elastische Lichtstreuung an einem Goldnanopartikel-Dimer in Wasser in Abhängigkeit von Partikelabstand und Polarisation. Streuquerschnitt für eine einfallende ebene Welle in (a) der longitudinalen Mode und (d) der transversalen Mode bei Oberflächenabständen zwischen 0,4 nm und 400 nm. Zum Vergleich ist jeweils grau gestrichelt das Zweifache des Streuspektrums des Einzelpartikels eingezeichnet ($d = \infty$). Wellenlängen und Streuquerschnitte der Maxima sind in (b) und (c) für die longitudinale Mode und in (e) und (f) für die transversale Mode gegen den Partikelabstand aufgetragen. In (a) und (b) zeigt sich deutlich, wie der Partikelabstand die Frequenz der longitudinalen Resonanz des Dimers bestimmt. Die rote Kurve in (b) ist eine χ^2 -angepasste Funktion nach Gl. (2.3.1): man sieht, dass Gl. (2.3.1) das System nicht korrekt beschreibt.

Mit abnehmendem Partikelabstand koppeln die Plasmonen mehr und mehr, die Streuresonanz der longitudinalen Mode verschiebt sich ins Rote. Für ein Dimer zweier identischer Partikel mit gegebenem Radius gibt es keinen weiteren Parameter, der das Spektrum beeinflusst. Die spektrale Lage der longitudinalen Streuresonanz kann also dazu genutzt werden, den Abstand zwischen den beiden Nanopartikeln eines Dimers spektroskopisch zu ermitteln. Für Dimere aus realen Nanopartikeln ist die Bestimmung absoluter Abstände aufgrund von Asphärizität und Polydispersität nur mit begrenzter Genauigkeit möglich. Abstandsänderungen können jedoch hochempfindlich nachgewiesen werden, da die spektrale Lage der Streuresonanz bei kleinen Abständen sehr stark auf eine solche Änderung reagiert.

Der funktionale Zusammenhang zwischen Resonanzwellenlänge λ_{\max} und Oberflächenabstand $\tilde{d} = d - 2R$ der Partikel ist dabei durchaus nicht trivial. Kürzlich ist nichtsdestoweniger eine einfache exponentielle Abhängigkeit der Art

$$\frac{\lambda_{\max}(\tilde{d})}{\lambda_E} = 1 + C_1 \exp\left(-\frac{\tilde{d}}{C_2 2R}\right) \quad (2.3.1)$$

als „Plasmonenzollstock-Gleichung“ vorgeschlagen worden [71], wobei λ_E die Wellenlänge des Streumaximums des Einzelpartikels ist und C_1 und C_2 Konstanten bezeichnen, die von Partikelmateriale, Partikelradius und dielektrischer Umgebung abhängen. In Abb. 2.5b ist eine solche Funktion nach der Methode der kleinsten Quadrate den per Mie-Theorie berechneten Datenpunkten angepasst worden (rote Kurve). Die Übereinstimmung ist unzureichend, Gl. (2.3.1) ist daher abzulehnen.

Für Oberflächenabstände größer als 1 nm geht in Abb. 2.5a und c die zunehmende Rotverschiebung bei kleiner werdenden Abständen mit einer Zunahme des maximalen Streuquerschnitts einher. Für sehr kleine Abstände sinkt der maximale Streuquerschnitt allerdings wieder, gleichzeitig tritt im Streuspektrum eine weitere Resonanz auf, die sich ebenfalls mit abnehmendem Abstand ins Rote verschiebt (grüne, rote und schwarze Kurve). Diese Nebenresonanz verschwindet, wenn man die Entwicklungen in Vektorwellenfunktionen bei niedrigen Ordnungen abbricht. Dies deutet darauf hin, dass es sich um eine Kopplung des Dipolplasmons des einen Partikels mit höheren Multipolen des jeweils anderen Partikels handelt [60]. Von der Energie her wäre auch eine Interpretation als „anti-bindende Hybridisierung“ der Nanopartikeldipole im Sinne von [60] möglich, bei der die beiden Dipole antiparallel orientiert sind. Jedoch ist diese Mode mit Licht nicht ohne weiteres anzuregen, da in ihr das Gesamtdipolmoment verschwindet.

Abbildung 2.5d zeigt die transversalen Streuspektren der gleichen Dimere wie in Abb. 2.5a–c. Sowohl die spektrale Lage des Plasmons als auch die Stärke der Resonanz hängen hier nur schwach vom Abstand ab. Auffällig ist die Unterdrückung der Streuung, wenn der Abstand der Mittelpunkte der Partikel ungefähr der halben Resonanzwellenlänge entspricht.

2.3 Die durchstimmbare Resonanz des Nanopartikeldimers

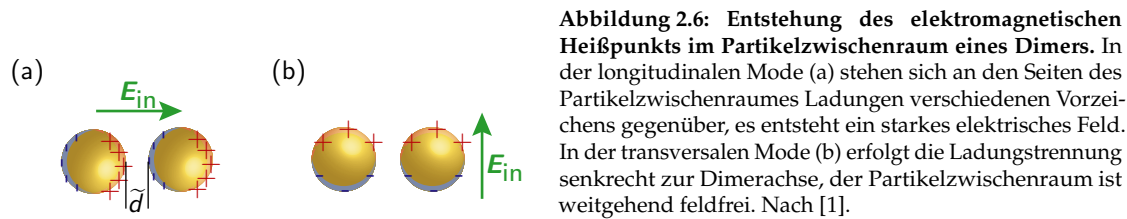


Abbildung 2.6: Entstehung des elektromagnetischen Heißpunkts im Partikelzwischenraum eines Dimers. In der longitudinalen Mode (a) stehen sich an den Seiten des Partikelzwischenraumes Ladungen verschiedenen Vorzeichens gegenüber, es entsteht ein starkes elektrisches Feld. In der transversalen Mode (b) erfolgt die Ladungstrennung senkrecht zur Dimerachse, der Partikelzwischenraum ist weitgehend feldfrei. Nach [1].

2.3.2 Nahfeld

Durch die Anregung des gekoppelten Nanopartikelplasmons kommt es zu einer starken Änderung des elektrischen Nahfeldes. Für zwei repräsentative Oberflächenabstände¹ von 0,8 nm und 16 nm ist in der Abbildung 2.7 der Betrag des elektrischen Nahfeldes in der longitudinalen Mode bei fünf Wellenlängen kartiert. Diese Wellenlängen sind anhand der Streuspektren in Abb. 2.5a gewählt: $\lambda = 450$ nm liegt für beide Dimere deutlich auf der blauen Seite außerhalb der Resonanzen. Bei 550 nm befindet sich für $\tilde{d} = 0,8$ nm das Nebenmaximum, für $\tilde{d} = 16$ nm das Hauptmaximum des Streuspektrums. Bei 600 nm nimmt das Streuspektrum des 0,8 nm-Dimers ein lokales Minimum an, bei 655 nm sein globales Maximum. Die Wellenlänge 750 nm liegt schließlich für beide Dimere auf der roten Seite abseits der Resonanzen.

Zunächst fällt in Abbildung 2.7 auf, dass für beide Partikelabstände und für alle Wellenlängen das Nahfeld im Partikelzwischenraum überhöht ist. Der Partikelzwischenraum bildet somit einen elektromagnetischen Heißpunkt (engl. *hot spot*). Die Polarisierung der beiden Nanopartikel in der longitudinalen Mode bewirkt, dass an den einander zugewandten Seiten der Partikel Ladungen verschiedenen Vorzeichens auftreten (Abb. 2.6). Dadurch entsteht in dem schmalen Spalt zwischen den Partikeln ein hoher Potentialgradient und damit ein starkes elektrisches Feld. Auch an den beiden Polen des Dimers tritt eine Feldüberhöhung auf, jedoch etwas schwächer als im Partikelzwischenraum. Insbesondere bei dem Dimer mit $\tilde{d} = 0,8$ nm sieht man, dass bei der Hauptresonanz ($\lambda = 655$ nm) das Feld besonders stark im Partikelzwischenraum konzentriert ist und an den Polen des Dimers keine vergleichbar starke Feldüberhöhung auftritt. Dagegen ist bei der Nebenresonanz ($\lambda = 550$ nm) das Feld an den Polen im Vergleich zum Partikelzwischenraum eher deutlicher überhöht als abseits der Resonanzen ($\lambda = 450$ nm bzw. 750 nm). Bei beiden Dimeren zeigt sich überdies eine Schwächung des einfallenden Feldes an den langen Seiten des Dimers, die durch die hier zurück- und damit dem einfallenden Feld entgegenlaufenden Feldlinien der Nanopartikeldipole verursacht wird (vgl. Abb. 2.2). Diese Schwächung ist bei langen Wellenlängen ausgeprägter als bei kurzen.

In den Abbildungen 2.8 und 2.9 sind auf einem weitmaschigeren Gitter die zu Abb. 2.7 gehörigen Feldvektoren \mathbf{E} dargestellt. Hier zeigt sich bei dem Nanopartikeldimer mit 0,8 nm Partikelabstand, dass sich durch das starke Koppeln zwischen den Plasmonen das Feld im Partikelzwischenraum stark entlang der Dimerachse ausrichtet. Bei dem Dimer mit 16 nm Partikelabstand ist dagegen der Einfluss der zwei getrennten Nanopartikeldipole ausgeprägter, die

¹rote und gelbe Kurven in Abb. 2.5a und Abb. 2.10a

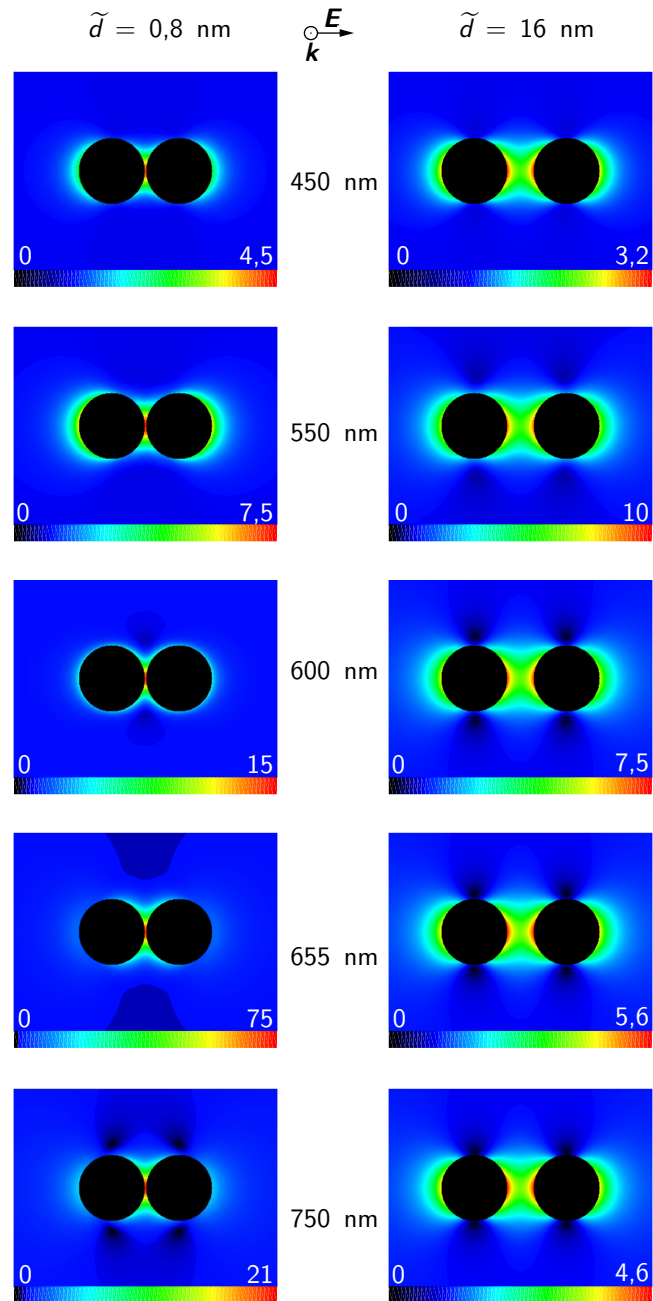


Abbildung 2.7: Betrag des lokalen elektrischen Gesamtfeldes in der longitudinalen Mode, für Nanopartikel-dimere mit Partikelradius 20 nm und Oberflächenabstand 0,8 nm bzw. 16 nm bei ausgewählten Wellenlängen; Ebene $\perp k$ durch die Mittelpunkte der Nanopartikel. Die angegebenen Werte sind als Vielfache der Feldstärke des einfallenden Feldes zu verstehen. Zwischen 0 und 1 wird eine lineare Farbskala mit Übergang von Schwarz nach Blau verwendet, dunkelblaue Bereiche haben somit ein reduziertes Gesamtfeld. Zwischen 1 und dem jeweiligen Maximum geht die Farbskala von Blau über Grün und Gelb nach Rot.

2.3 Die durchstimmbare Resonanz des Nanopartikeldimers

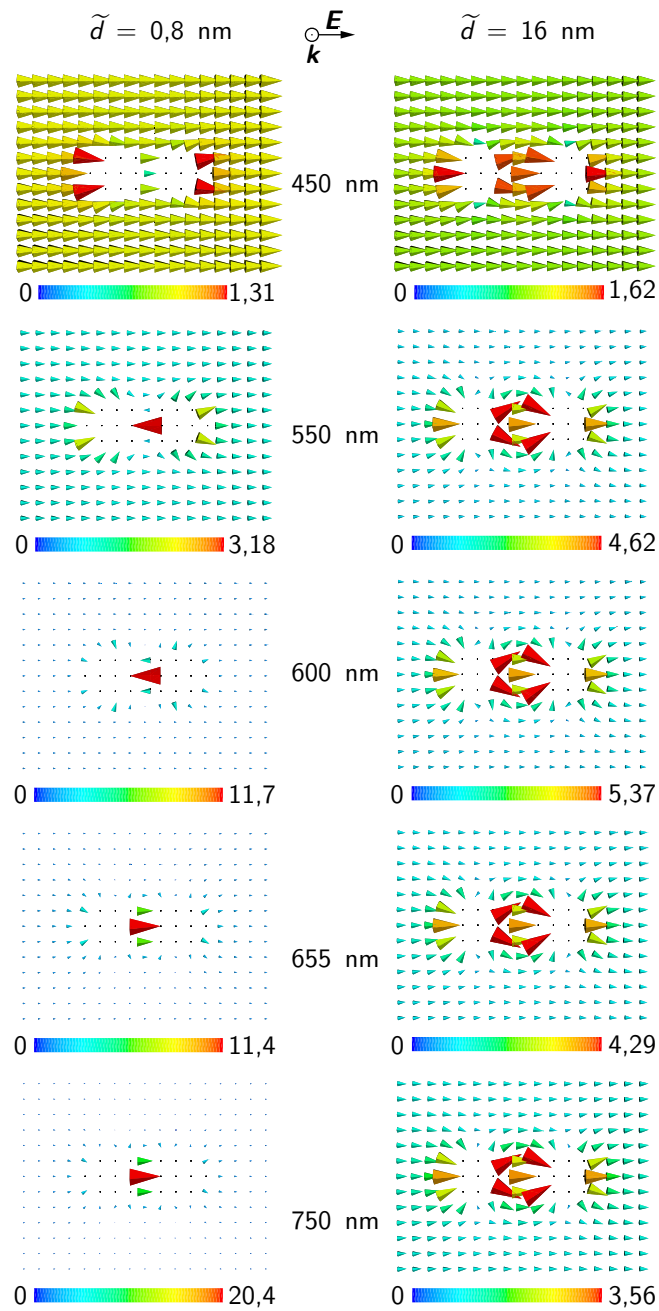


Abbildung 2.8: Realteil des lokalen elektrischen Gesamtfeldes zu Abb. 2.7. Das einfallende Feld ist in der abgebildeten Ebene rein real, somit entspricht der Realteil dem Anteil des Gesamtfeldes, der mit dem einfallenden Feld in Phase ist.

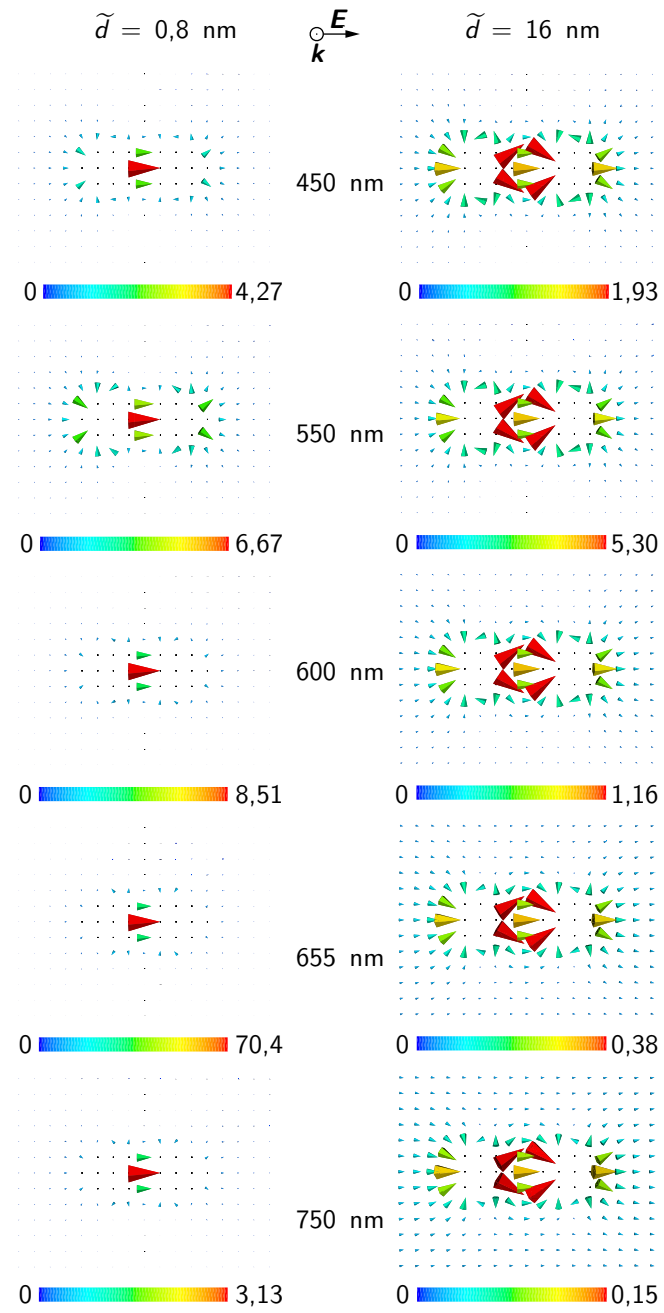


Abbildung 2.9: Imaginärteil des lokalen elektrischen Gesamtfeldes zu Abb. 2.7. Der Imaginärteil entspricht hier dem Anteil des Gesamtfeldes, der gegenüber dem einfallenden Feld um $\pi/2$ phasenverschoben ist.

2.3 Die durchstimmbare Resonanz des Nanopartikeldimers

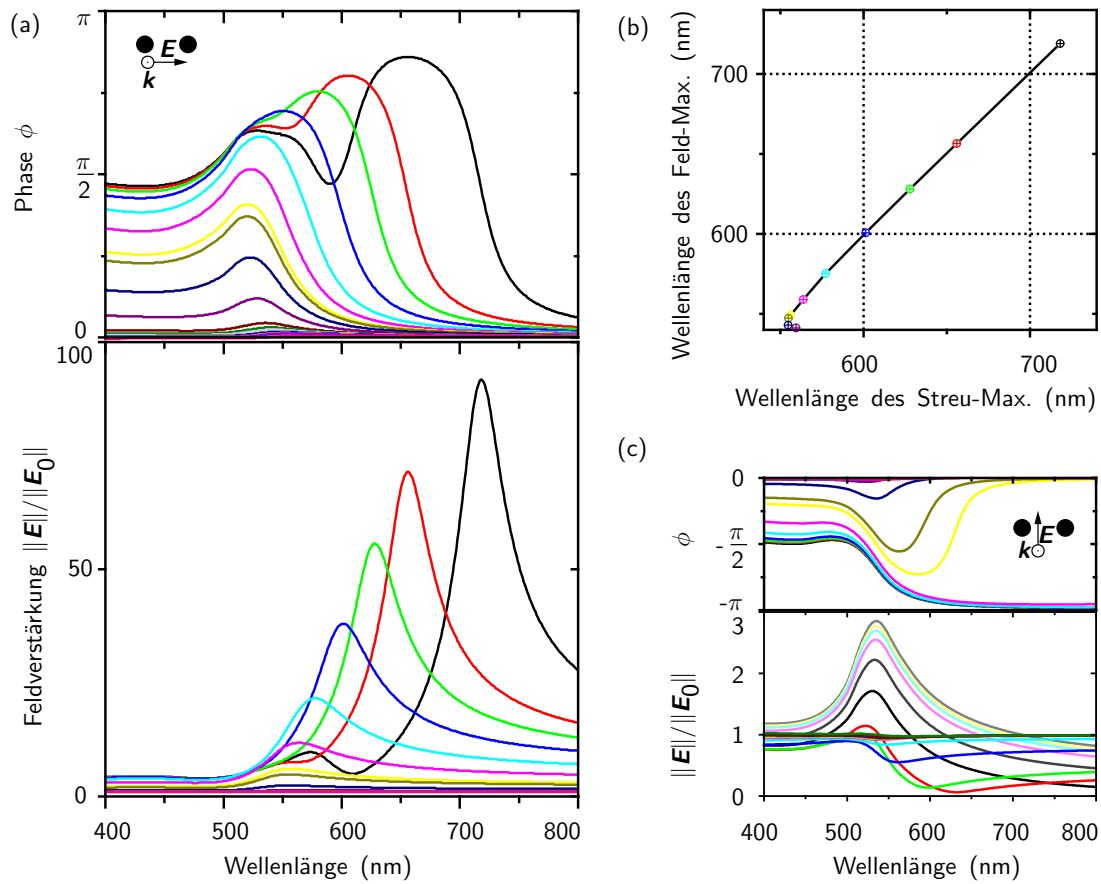


Abbildung 2.10: Elektrisches Feld im Partikelzwischenraum eines Goldnanopartikel-Dimers in Abhängigkeit vom Partikelabstand. Die Parameter sind die gleichen wie in Abb. 2.5. Das Feld ist auf der Mitte der Verbindungslinie zwischen den Partikelmittelpunkten berechnet. **(a) Longitudinale Mode.** Phase (oben) und Betrag (unten) des Feldes. **(b) Korrelation mit dem Streuspektrum.** Maximale Streuung und maximales Nahfeld treten für einen gegebenen Abstand bei den gleichen Wellenlängen auf. **(c) Transversale Mode.** Phase (oben) und Betrag (unten) des Feldes.

Feldlinien im Partikelzwischenraum sind nach außen gebogen. Daneben fällt in der vektoriellen Darstellung die teilweise deutliche Phasenverschiebung gegenüber dem einfallenden Feld ins Auge, die hier als ausgeprägter Imaginärteil bzw. als Umkehr des Vorzeichens des Realteils in Erscheinung tritt.

In Abbildung 2.10 sind Phase $\phi = \arg(E \cdot E_{\text{in}}^*)$ und Betrag des Feldes $E = E_{\text{in}} + E_{\text{str}}$ in der Dimermitte für alle Abstände aus Abb. 2.5 gegen die Wellenlänge aufgetragen. Die auftretenden Phasenverschiebungen liegen für die longitudinale Mode (a) im Intervall $[0, \pi]$. Der Maximalwert der Phasenverschiebung wächst dabei mit abnehmendem Partikelabstand, er wird bei etwas kleineren Wellenlängen als das Hauptmaximum der Feldstärke erreicht. Wie bei einem getriebenen harmonischen Oszillator tendiert die Phase für hohe Frequenzen (also niedrige Wellenlängen) gegen einen von Null verschiedenen Wert, während sie bei niedrigen Frequenzen (also großen

Wellenlängen) verschwindet. Ebenso gehen die Maxima der Feldstärke mit Wendepunkten der Phase einher.

Wie die Streuresonanzen verschieben sich die Feldstärkemaxima mit abnehmendem Abstand zunehmend ins Rote. Gleichzeitig steigt der Betrag des Feldes bis auf das nahezu 100fache der Amplitude der einfallenden Welle. Es werden also sehr hohe Feldverstärkungen erreicht. Abbildung 2.10b zeigt die Korrelation zwischen der Wellenlänge maximalen Nahfeldes und der Wellenlänge maximaler Streuung: die Übereinstimmung ist nahezu perfekt. Das Streuspektrum kann also in der longitudinalen Mode als einfach zugänglicher Indikator für die Feldstärkeüberhöhung im Nahfeld des Dimers genutzt werden.

In der transversalen Mode (Abb. 2.10c) gibt es keine vergleichbaren Feldverstärkungen, bei einigen Abständen kommt es sogar zur Unterdrückung des Feldes im Partikelzwischenraum.

2.4 Plasmonverstärkte Fluoreszenz und Ramanstreuung

Optische Spektroskopie organischer Moleküle umfasst unter anderem die Messung von Fluoreszenz und Ramanstreuung. Die Fluoreszenz gibt dabei in erster Linie Aufschluss über die elektronischen Zustände des Moleküls, die Ramanstreuung hauptsächlich über seine vibronischen Zustände. Die Wahrscheinlichkeiten beider Prozesse werden durch das erhöhte Nahfeld und die Änderung der Zustandsdichte in der spektralen Umgebung der plasmonischen Resonanzen eines Nanopartikelaggregats drastisch modifiziert.

In Abschnitt 2.4.1 und Abschnitt 2.4.2 werden zunächst einige grundlegende Fakten zu Fluoreszenz beziehungsweise Ramanstreuung in Erinnerung gerufen. Dann wird jeweils qualitativ erläutert, wie Fluoreszenz und Ramanstreuung durch einen plasmonischen Resonator verstärkt oder unterdrückt werden können. Eine detaillierte quantitative Theorie der Beeinflussung von Fluoreszenz und Ramanstreuung durch ein Aggregat beliebig vieler sphärischer Nanopartikel wird in Kapitel 5 entwickelt.

2.4.1 Fluoreszenz, resonanter Energietransfer und Purcell-Effekt

Wir betrachten hier nur Fluoreszenz eines Moleküls, die mit Licht angeregt wird, man spricht in diesem Fall auch von Photolumineszenz. Das Molekül absorbiert dabei zunächst ein Photon und geht dadurch von seinem Grundzustand S_0 in einen elektronisch angeregten Zustand S_1 über. Es verbleibt dort eine gewisse Zeit und kehrt dann durch spontane Emission eines Photons in den Grundzustand zurück. Bei einem Molekül bestehen sowohl der elektronische Grundzustand als auch der angeregte Zustand aus einer Serie vibronischer Unterzustände, was dazu führt, dass sowohl Absorptions- als auch Emissionsspektrum aus mehreren vibronischen Banden bestehen.

Das Molekül wird in der Regel in einen höheren vibronischen Unterzustand von S_1 angeregt und relaxiert dann durch schnelle phononische Relaxation in den vibronischen Grundzustand von S_1 . Dies führt dazu, dass das emittierte Fluoreszenzphoton meist eine niedrigere Energie hat

2.4 Plasmonverstärkte Fluoreszenz und Ramanstreuung

als das absorbierte Anregungsphoton (Stokes-Verschiebung). Zugleich bewirkt dies – in Lösung gemeinsam mit der Wechselwirkung mit dem Lösungsmittel – einen Verlust der Kohärenz, so dass Absorption und Emission als zwei inkohärente Ein-Photonen-Prozesse betrachtet werden müssen.

Der Absorptionsquerschnitt von Fluoreszenzfarbstoffen am Maximum des Absorptionsspektrums liegt typischerweise im Bereich $\sigma_{\text{abs}} = 10^{-16} \text{ cm}^2$ bis 10^{-15} cm^2 . So hat zum Beispiel der Farbstoff Indocarbocyanin(Cy3) in Wasser einen Absorptionsquerschnitt von $\sigma_{\text{abs}}(540 \text{ nm}) = 5,09 \times 10^{-16} \text{ cm}^2$ [76]. Bei monochromatischer Anregung mit Frequenz ω_{exc} berechnet sich die Anregungsrate γ_{exc} des Farbstoffes aus der einfallenden Lichtintensität S_{in} und dem Absorptionsquerschnitt gemäß

$$\gamma_{\text{exc}} = \frac{S_{\text{in}}}{\hbar\omega_{\text{exc}}} \sigma_{\text{abs}}(\omega_{\text{exc}}) \quad (2.4.1)$$

solange die Anregungsrate wesentlich kleiner als die Zerfallsrate des angeregten Zustands ist.

Die Wahrscheinlichkeit, dass der angeregte Zustand strahlend – also durch spontane Emission eines Photons – zerfällt, wird durch die Quanteneffizienz η des Moleküls ausgedrückt. Diese berechnet sich aus den Raten des strahlenden und des nichtstrahlenden Zerfalls des angeregten Zustands, γ_{r} und γ_{nr} , gemäß

$$\eta = \frac{\gamma_{\text{r}}}{\gamma_{\text{r}} + \gamma_{\text{nr}}} \quad (2.4.2)$$

Typische Werte für die strahlende Zerfallsrate von Fluoreszenzfarbstoffen liegen in der Größenordnung von $\gamma_{\text{r}} = \frac{1}{4 \text{ ns}}$, Quanteneffizienzen guter Fluoreszenzfarbstoffe liegen im Bereich $\eta = 0,1$ bis nahezu 1,0. Die Rate der bei einer bestimmten Anregungsintensität S_{in} von einem Farbstoffmolekül emittierten Fluoreszenzphotonen $F_{\text{ges}}(S_{\text{in}})$ ist das Produkt der Anregungsrate mit der Quanteneffizienz:

$$F_{\text{ges}}(S_{\text{in}}) = \gamma_{\text{exc}}(S_{\text{in}}) \eta \quad (2.4.3)$$

Resonanter Energietransfer

Befindet sich ein Fluorophor näher als ca. 20 nm an einer absorbierenden plasmonischen Nanostruktur, tritt ein zusätzlicher nichtstrahlender Zerfallskanal des angeregten Zustands auf, der sich fluoreszenzmindernd auswirkt: der resonante Energietransfer. Klassisch gesehen beruht dieser darauf, dass das absorbierende Nanopartikel als Senke für das elektromagnetische Nahfeld des Fluorophors wirkt, indem es die von seinem Plasmon aufgenommene elektromagnetische Energie in Wärme umsetzt. Quantenmechanisch gesehen relaxiert das angeregte Fluorophor durch Erzeugung eines Quasiteilchens der Plasmonoszillation. Durch den zusätzlichen Zerfallskanal verkürzt sich die Lebensdauer des angeregten Zustands des Fluorophors und die Quanteneffizienz sinkt. Der Energietransfer ist umso schneller, je näher der Farbstoff sich an der

dissipierenden Nanostruktur befindet und je mehr das Emissionsspektrum des Farbstoffes mit dem Absorptionsspektrum der Nanostruktur überlappt.

Zuerst wurde dieses Phänomen in der Nähe rauher Metallfilme beobachtet [25]. Für ein Fluorophor in der Nähe eines einzelnen Nanopartikels ist der resonante Energietransfer in den letzten Jahren umfassend experimentell untersucht worden. Die Abhängigkeit der Transferraten und der Fluoreszenzintensität von Nanopartikelradius [13], Abstand zwischen Nanopartikel und Fluorophor [20, 21, 23, 24, 77–79] und spektralem Überlapp zwischen Fluorophoremission und Plasmonabsorption [80, 81] sowie qualitativ von der Dipolorientierung [23, 24] sind gemessen worden. Auch bei Phosphoren mit im Vergleich zu Fluorophoren wesentlich längeren Lebensdauern kann der Effekt beobachtet werden [22].

Verschiedene Modelle sind zur Beschreibung des resonanten Energietransfers zwischen einem Fluorophor und einem einzelnen sphärischen Nanopartikel vorgeschlagen worden. Neben dem benutzten Formalismus unterscheiden sie sich hinsichtlich der einfließenden Details von Molekül, Nanopartikel und Wechselwirkung. So berücksichtigt beispielsweise das Gersten-Nitzan-Modell [82] die (im allgemeinen kleine) Anregung des Fluorophors durch sein eigenes vom Nanopartikel gestreutes Feld. Andere Modelle bemühen sich, die bei kleinen Abständen wirksamen Nichtlokalitäten zu berücksichtigen [83], oder darum, die elektronische Konfiguration des Farbstoffes möglichst exakt abzubilden [84]. Im Rahmen dieser Dissertation habe ich die Modelle von Gersten-Nitzan [82] und Leung [83] in der Programmiersprache C implementiert, um zum Beispiel für [22] eine schnelle Berechnung von Transferraten für verschiedene Abstände, Radien und Frequenzen zu ermöglichen. Auch das in Kapitel 5 entwickelte Modell für Nanopartikelaggregate kann für einzelne Partikel benutzt werden. Dieses Modell zeichnet sich gegenüber den erwähnten Modellen dadurch aus, dass es voll retardiert ist und beliebig hohe Multipolordnungen berücksichtigt werden können.

Der resonante Energietransfer von Fluorophoren zu wohldefinierten Nanopartikel-Aggregaten ist bisher theoretisch und experimentell noch weitgehend unerforscht. Die vorliegende Arbeit präsentiert in Kapitel 5 ein Modell, mit dem die Energietransferrate in einer solchen Anordnung berechnet werden kann. In den in Kapitel 6 beschriebenen Experimenten wurden keine zeitauflösenden Messungen durchgeführt, daher kann die Energietransferrate hier nicht direkt bestimmt werden. Der Energietransfer wirkt sich jedoch im Zusammenspiel mit Anregungsverstärkung und Purcell-Effekt auf die gemessenen Intensitäten aus (s. Kapitel 5).

Purcell-Effekt

Nicht nur der nichtstrahlende Zerfall, sondern auch der strahlende Zerfall des angeregten Zustands eines Fluorophors wird durch eine plasmonische Resonanz beeinflusst. Ursache ist der auch bei Fernfeldresonatoren auftretende Purcell-Effekt [85]. Ein Resonator ändert die lokale Modendichte ϱ des elektromagnetischen Feldes und verursacht damit gemäß Fermis Goldener

2.4 Plasmonverstärkte Fluoreszenz und Ramanstreuung

Regel [86, 87]

$$\gamma_r^{if} = \frac{|\langle f|H_I|i\rangle|^2}{\hbar^2} \varrho(\omega/(2\pi)) \quad (2.4.4)$$

eine Verstärkung oder Unterdrückung der Rate der spontanen strahlenden Übergänge zwischen den Zuständen $|i\rangle$ und $|f\rangle$ ¹ [87–91]. Bei einem Mehr-Niveau-System wie einem fluoreszierenden Molekül werden resonante Übergänge verstärkt und nicht-resonante Übergänge unterdrückt. Daher ändert sich nicht nur die Gesamt-Emissionsrate sondern auch das Fluoreszenzspektrum [92, 93]. Die Modendichte in einem elektromagnetischen Stehende-Welle-Resonator ist bei der Resonanz gegeben durch [87]

$$\varrho_{\text{Reso}}(\omega/(2\pi)) = \frac{2\pi Q}{\omega V} \quad (2.4.5)$$

wobei Q den Gütefaktor und V das Volumen des Resonators bezeichnen. Der Purcellfaktor $g_r(\omega)$ gibt das Verhältnis der strahlenden Rate im Resonator zur strahlenden Rate im freien Raum an. Man erhält ihn durch Normierung von ϱ aus Gl. (2.4.5) auf die Modendichte im freien Raum zu [94]

$$g_r(\omega) = \frac{6\pi c^3}{\omega^3} \frac{Q}{V} \quad (\text{im Vakuum}) \quad (2.4.6)$$

Um einen nennenswerten Purcell-Effekt zu erreichen, muss daher ein möglichst kleiner Resonator mit hoher Güte gewählt werden. Die kleinste Länge für einen Fernfeld-Resonator mit einer stehenden Welle ist die halbe Wellenlänge. Mit Resonatoren dieser Größenordnung, Mikroresonatoren genannt, ist es möglich, sowohl die Änderung der Lebensdauer als auch die Änderung des Emissionsspektrums an einzelnen Farbstoffmolekülen zu zeigen [95]. Eine Übersicht über Arbeiten zum Purcell-Effekt mit Mikroresonatoren findet sich beispielsweise in [94].

Die Miniaturisierungsgrenze der Mikroresonatoren, die halbe Wellenlänge, kann unterschritten werden, wenn man sich plasmonischer Nahfeld-Resonatoren bedient. Die in Kapitel 6 diskutierten Experimente zeigen zum ersten Mal eindeutig den Purcell-Effekt in Nanopartikeldimer-Nahfeldresonatoren in Gestalt der partikelabstandsabhängigen Änderung von Fluoreszenzspektren eingelagerter Fluorophore.

Der Purcellfaktor für Nahfeldresonatoren aus ein, zwei oder mehr Nanopartikeln kann mit dem in Kapitel 5 dieser Arbeit entwickelten Modell berechnet werden.

Anregungsverstärkung

Bei der Resonanzfrequenz wird in einem Resonator, sei es nun ein Fern- oder ein Nahfeldresonator, das anregende Feld um ein Vielfaches überhöht. Wählt man nun eine im Bereich der Resonanz liegende Frequenz als Anregungsfrequenz für den im Resonator befindlichen Farbstoff, so

¹ $\langle f|H_I|i\rangle$ ist das volumennormierte Matricelement [87].

erfährt der Farbstoff eine erhöhte lokale Intensität $S_{\text{in}} \propto \|E\|^2$, wird somit fern der Sättigung nach Gl. (2.4.1) auch häufiger angeregt und kann daher auch häufiger ein Photon emittieren. Dies führt also zu einer Erhöhung der gemessenen Fluoreszenzintensität bei gegebener äußerer Anregungsleistung.

Die Berechnung der Anregungsverstärkung erfordert eine Berechnung der lokalen Feldstärke $\|E\|$ im Resonator. Für Nahfeldresonatoren aus ein, zwei oder mehr sphärischen Nanopartikeln kann dazu der in Abschnitt 2.2.2 beschriebene Formalismus der verallgemeinerten Mie-Theorie genutzt werden.

2.4.2 Ramanstreuung und oberflächenverstärkte Ramanstreuung

Ramanstreuung [96–98]¹ bezeichnet die inelastische, instantane Streuung von Licht an Materie, im Kontext dieser Arbeit an Molekülen in wässriger Umgebung. In einem Zweiphotonen-Prozess wird ein Photon vernichtet und ein neues geänderter Energie erzeugt, wobei die Energiedifferenz durch die Erzeugung oder Vernichtung eines Phonons ausgeglichen wird. Das Phonon entspricht bei einem Molekül der Anregung einer bestimmten Schwingungsmode. Wird ein Phonon erzeugt, so ist die Frequenz des emittierten Lichtes um die Phononfrequenz vermindert, man spricht in diesem Fall von Stokes-Ramanstreuung. Wird ein Phonon vernichtet, so ist die Frequenz des emittierten Lichtes um die Phononfrequenz erhöht, und man spricht von Anti-Stokes-Ramanstreuung. Die relativen Intensitäten von Stokes- und Anti-Stokes-Streuung sind dabei in erster Linie durch die Population der betreffenden Schwingungsmode des Moleküls bestimmt. Die Differenzfrequenz zwischen einfallendem und gestreutem Licht heißt Ramanverschiebung einer Ramanlinie.

Ramanstreuquerschnitte für starke Ramanlinien liegen für Moleküle im Sichtbaren typischerweise in der Größenordnung $\sigma_{\text{Raman}} = 10^{-30} \text{ cm}^2$ bis 10^{-29} cm^2 [100, 101]. Damit sind sie etwa 100 bis 1000mal kleiner als der elastische Streuquerschnitt, der in der Größenordnung von $\sigma_{\text{Rayleigh}} = 10^{-27} \text{ cm}^2$ liegt [102].

Die Polarisation des ramangestreuten Lichtes muss im allgemeinen nicht mit der Polarisation des einfallenden Lichtes identisch sein. Man definiert daher den Ramantensor α_{R}

$$E_{\text{Raman}} = \alpha_{\text{R}} E_{\text{in}} \quad (2.4.7)$$

als 3×3 -Matrix. Hat der Ramantensor einer Schwingung die Spur Null, so ist die resultierende Ramanlinie depolarisiert. Ist er proportional zur Einheitsmatrix, so ist die resultierende Ramanlinie vollständig polarisiert. Welcher Fall vorliegt, hängt von der Symmetriegruppe der angeregten Schwingung ab.

¹Zur Geschichte der Entdeckung der Ramanstreuung siehe beispielsweise [99].

Oberflächenverstärkte Ramanstreuung

Oberflächenverstärkte Raman-Streuung wurde zum ersten Mal im Jahr 1974 an einer aufgerauhten Silberelektrode beobachtet, zunächst aber als Effekt einer größeren Oberfläche und damit einer größeren Zahl adsorbierter ramanaktiver Moleküle fehlinterpretiert [34]. Erst die Wiederholung der Experimente im Jahr 1977 [35, 36] zeigte, dass die beobachtete enorme Vergrößerung des Ramansignals auf eine echte Verstärkung des Ramaneffekts selbst zurückzuführen sein musste. Diese wird auf zwei Klassen von Mechanismen zurückgeführt: chemische und elektromagnetische. Unter der Bezeichnung chemische Verstärkung werden die Änderungen des Ramanquerschnitts selbst durch die Chemisorption des ramanaktiven Moleküls auf die Metalloberfläche zusammengefasst [103, 104]. Im allgemeinen wird der chemische Verstärkungsfaktor auf maximal 10^3 abgeschätzt [105, 106]. Den Löwenanteil der Ramanverstärkung mit Faktoren bis zu 10^{11} stellt aber die elektromagnetische Verstärkung [1, 107]. Der Mechanismus der elektromagnetischen Ramanverstärkung ist im wesentlichen analog zur Anregungsverstärkung und zum Purcell-Effekt im Falle der Fluoreszenzverstärkung in einer Nanostruktur. Zum einen wird im erhöhten Nahfeld einer Nanostruktur der Ramanprozess effektiv mit einer höheren lokalen Intensität $S_{\text{in}} \propto \|E\|^2$ „angeregt“, zum anderen „hilft“ der Resonator beim Abstrahlen eines Photons. Etwas salopp wird für gewöhnlich argumentiert, die Verstärkung des emittierten Feldes erfolge in genau der gleichen Weise („in exactly the same manner“ [1]) wie die Verstärkung des anregenden Feldes und der elektromagnetische Ramanverstärkungsfaktor g_{EM} sei daher für kleine Ramanverschiebungen durch die vierte Potenz der lokalen Feldverstärkung gegeben:

$$g_{\text{EM}} \approx \left(\frac{\|E\|}{\|E_{\text{in}}\|} \right)^4 \quad (2.4.8)$$

Tatsächlich ist dies nicht richtig. Bei der Anregung handelt es sich um die Verstärkung einer ebenen Welle, bei der Abstrahlung dagegen um die Verstärkung eines Dipolfeldes. Der Grund für die Popularität der genannten Behauptung ist vermutlich hauptsächlich darin zu sehen, dass sie den Modellierungsaufwand halbiert.

Oberflächenverstärkte Ramanstreuung wird durch Energietransfer nicht beeinflusst, da das Molekül nicht in einen angeregten Zustand versetzt wird, aus dem es durch Energietransfer in den Grundzustand zurückkehren könnte. Daher erreicht die elektromagnetische Ramanverstärkung in Nanostrukturen wesentlich höhere Werte als die Verstärkung der Photolumineszenz.

Da Ramanstreuung an sich aber ein recht unwahrscheinlicher Prozess ist, kann oberflächenverstärkte Ramanstreuung an den wenigen Molekülen in der Nähe eines einzelnen sphärischen Nanopartikels kaum gemessen werden, da hier nicht genügend große Feldverstärkungen auftreten. Dagegen kann oberflächenverstärkte Ramanstreuung leicht gemessen werden, wenn es elektromagnetische Heißpunkte (engl. hot spots) gibt, in denen besonders hohe Feldverstärkungen auftreten. Dies ist zum Beispiel zwischen den beiden Partikeln eines Dimers [41–43, 108] in großen Nanopartikelaggregaten [38–40] oder in fraktalen Nanostrukturen [34–36, 109] der Fall.

Wie wir in Kapitel 5 zeigen werden, kann die elektromagnetische Ramanverstärkung für

einzelne und mehrere sphärische Nanopartikel mit den gleichen Modellen berechnet werden wie die Fluoreszenzverstärkung.

Eine große Schwierigkeit in der Anwendung der oberflächenverstärkten Ramanstreuung ist die beobachtete starke Fluktuation von Intensitäten und Frequenzen der Linien des verstärkten Ramanspektrums, insbesondere wenn das Spektrum von nur wenigen Molekülen oder nur wenigen Heißpunkten stammt. In Kapitel 7 werden wir dieses Problem eingehender diskutieren und Experimente zur Ramanstreuung an Nanopartikeldimeren vorstellen, die eine Ursache dieser Fluktuationen in der möglichen Rückwirkung des Ramanprozesses auf den ihn begünstigenden Heißpunkt identifizieren.

2.5 Proteine als Verbinder für Nanopartikel

Kolloidale Goldnanopartikel werden hergestellt, indem ein Goldsalz in wässriger Lösung durch Zugabe von Natriumcitrat und anschließendes Erhitzen zu elementarem Gold reduziert wird [110, 111]. Das Natriumcitrat dient dabei nicht nur als Reduktionsmittel, sondern auch als Stabilisator der entstehenden Goldpartikel: indem es sich an die Oberfläche der Nanopartikel anlagert, lädt es diese negativ auf und verhindert so ein weiteres Zusammenklumpen zu größeren Einheiten.

Will man nun Nanopartikel, wie in Kapitel 4 beschrieben, zu Dimeren verbinden, so erfordert dies im wesentlichen drei Schritte: ein geeignetes Bindeglied zwischen den Nanopartikeln muss gefunden werden, die Oberfläche der Goldnanopartikel muss mit einer funktionellen Einheit versehen werden, die als Anker für das Bindeglied dienen kann, und die Abstoßung zwischen den Nanopartikeln muss so eingestellt werden, dass sich kleine Aggregate bilden können.

Für alle drei Schritte werden in dieser Arbeit Proteine benutzt, also biogene Makromoleküle, die aus einer dreidimensional gefalteten Kette über Peptidbindungen verknüpfter Aminosäuren bestehen. Im folgenden werden nun kurz die Konzepte und Erkenntnisse aus der Biochemie vorgestellt, die für die Herstellung von Protein-Ligand-verknüpften Nanopartikelaggregaten grundlegend sind.

2.5.1 Biotin-Streptavidin-Bindung

Um Nanopartikel zu kleinen Aggregaten zu koppeln, wird in dieser Arbeit einerseits die Biotin-Streptavidin-Bindung, andererseits die Bindung zwischen Hapten und Hapten-Antikörper ausgenutzt. Die Mechanismen ähneln sich relativ stark, tatsächlich wird das Biotin-Streptavidin-System in der Entwicklung von diagnostischen Testformaten, die auf Antikörper-Antigen-Wechselwirkung beruhen, regelmäßig als Modellsystem verwendet. Wir werden in dieser Arbeit exemplarisch Biotin und Streptavidin diskutieren.

2.5 Proteine als Verbinder für Nanopartikel

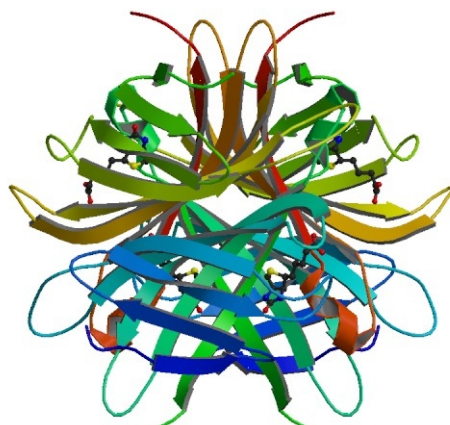


Abbildung 2.11: Protein-Struktur von Streptavidin mit gebundenem Biotin. Deutlich sichtbar sind die vier Untereinheiten mit den Biotin-Bindungstaschen. Erstellt aus dem PDB-Datensatz 1MK5 [112].

Aminosäurereste	Molekülmasse	Abmessungen	pI
159 [117]	60 000 u [120]	5,4 nm × 5,8 nm × 4,8 nm [121]	5 – 6 [116]
125 – 127 [118, 119]	72 000 u [118]	4,5 nm × 4,5 nm × 5,0 nm [122]	
	52 000 u [115]		

Tabelle 2.1: Einige Eigenschaften von Streptavidin.

Streptavidin

Streptavidin [113] ist ein aus vier identischen Untereinheiten aufgebautes Protein, also ein Tetramer bestehend aus vier Monomeren. Das Tetramer ist über einen weiten Temperatur- und pH-Bereich stabil [114, 115], der isoelektrische Punkt pI (vgl. Abschnitt 2.5.3) liegt zwischen fünf und sechs [116].

Das Streptavidin-Monomer besteht zunächst aus 159 Aminosäuren mit einer rechnerischen Molekülmasse von 16 491 u [117]. Vor dem Zusammenbau des in Abb. 2.11 gezeigten Tetramers wird es jedoch auf eine Länge von 125 bis 127 Aminosäuren gekürzt [118, 119]. Die Molekülmasse des Tetramers wurde ursprünglich zu 60 000 u bestimmt [120], jüngere Studien geben eine Molekülmasse von $4 \times 18\,000\text{ u} = 72\,000\text{ u}$ an [118]. Für das in der vorliegenden Arbeit verwendete rekombinant hergestellte Streptavidin spezifiziert Roche Diagnostics eine Molekülmasse von 52 000 u [115].

Die Angaben zur Größe des Streptavidin-Tetramers variieren in der Literatur ebenfalls, in [121] finden sich beispielsweise die Abmessungen $5,4\text{ nm} \times 5,8\text{ nm} \times 4,8\text{ nm}$, in [122] dagegen $4,5\text{ nm} \times 4,5\text{ nm} \times 5,0\text{ nm}$. Die Tiefe der Biotin-Bindungstasche wird mit 0,9 nm angegeben.

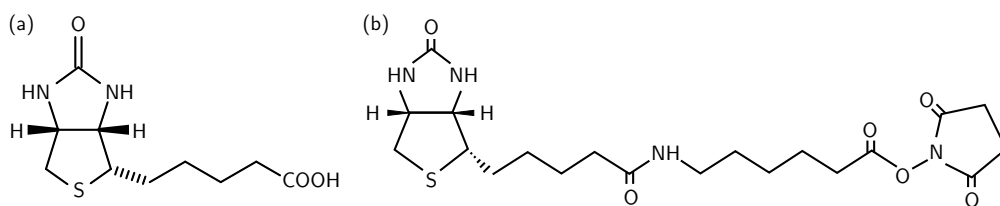


Abbildung 2.12: Biotin und Biotin X-OSu. (a) Strukturformel von Biotin mit einer Molekülmasse von 244,3 u. **(b) Strukturformel des D-Biotinyl- ϵ -Amido-Caprönsäure-N-Hydroxysuccinimidesters (Biotin-X-OSu)**, der bei Roche Diagnostics zur Biotinilierung von Albumin eingesetzt wird; nach [115]. Der Ester hat eine Molekülmasse von 454,5 u.

Biotin und Biotin-funktionalisierte Proteine

Biotin ist verglichen mit einem Protein ein kleines organisches Molekül mit einer Masse von 244,3 u; es ist in Abb. 2.12a dargestellt. Die Carboxy-Gruppe des Biotins kann mit einem N-Hydroxy-Succinimid oder Sulfo-N-Hydroxy-Succinimid aktiviert werden, um sie dann unter Bildung eines Carbonsäureamides an ein Seitenkettenamin eines Proteines zu binden¹ [116]. Ein solcherart modifiziertes Protein nennt man biotiniliert. Die maximale Anzahl der Biotine, die so an ein Protein gebunden werden können, ist durch Anzahl und Zugänglichkeit der Aminosäuren mit einem freien Seitenkettenamin (Lysine) bestimmt. Grundsätzlich ist es auch möglich, Aminosäuren, die eine freie Carboxyl-, Tyrosyl-, Histidyl- oder Sulfhydryl-Gruppe besitzen, mit einem Biotin zu versehen [116].

Biotin-Streptavidin-Wechselwirkung

Jede der vier identischen Streptavidin-Untereinheiten besitzt eine Bindungstasche, in der sie mit sehr hoher Affinität ein Biotin-Molekül binden kann: Die Affinitätskonstante ist mit $K_d = 10^{15} \text{ M}^{-1}$ etwa 100mal größer als diejenigen zwischen hochaffinen Antikörpern und ihren Liganden [115, 120]. Die dreifache Ursache dieser hohen Affinität ist durch Röntgenstrukturanalysen des kristallisierten Streptavidin-Biotin-Komplexes (Abb. 2.11) aufgeklärt worden [123–126]: In der Bindungstasche lagern sich vier Tryptophan-Seitenketten an das Biotin an und binden es dort durch hydrophobe Van-der-Waals-Wechselwirkung, zusätzlich bildet sich ein Netzwerk von Wasserstoffbrückenbindungen aus, und schließlich faltet sich nach Bindung eines Biotins eine Peptidkette über die Bindungstasche und verhindert so, dass das Biotin die Bindungstasche wieder verlässt. Teilweise können diese Mechanismen behindert werden, wenn das Biotin wie oben beschrieben kovalent an ein anderes Protein gebunden vorliegt. Dennoch bleibt diese Bindung so stark, dass eine einmal eingegangene Bindung im wesentlichen als dauerhaft betrachtet werden kann. In der vorliegende Arbeit zeigt sich sogar, dass die Bindung zwei Nanopartikel während einer 90minütigen Gelelektrophorese zusammenhalten kann.

¹Das Biotin kann auch zunächst mit einem Abstandhalter – im Falle des in Abb. 2.12b gezeigten Biotin-X-OSu dient dazu eine Amido-Caprönsäure – modifiziert werden, dessen zweites Ende dann an das Protein gebunden wird. Dies hat den Vorteil, dass aufgrund geringerer sterischer Hinderung die Funktionalität weniger beeinträchtigt wird.

2.5 Proteine als Verbinder für Nanopartikel

Aminosäurereste	Molekülmasse	Abmessungen	pI
583 [128]	66 430 u [128]	14 nm × 4 nm × 4 nm [130] 8,4 nm × 8,4 nm × 3,15 nm [131]	4,7 [132] 4,9 [132]

Tabelle 2.2: Einige Eigenschaften von Rinderserumalbumin.

2.5.2 Funktionalisierung von Goldnanopartikeln mit biotiniliertem Albumin

Um die im vergangenen Abschnitt beschriebene Biotin-Streptavidin-Bindung zum Verknüpfen von Goldnanopartikeln ausnutzen zu können, muss einer der beiden Bindungspartner auf dem Gold verankert werden. Prinzipiell können sowohl Streptavidin als auch Biotin an Gold gebunden werden. In der vorliegenden Arbeit wurden Goldnanopartikel verwendet, die mit biotiniliertem Rinderserumalbumin konjugiert sind, da sich diese Funktionalisierung der Goldnanopartikel als äußerst stabil erwiesen hat.

Rinderserumalbumin

Rinderserumalbumin [127], kurz RSA, ist ein Protein aus 583 Aminosäuren mit einem Molekulargewicht von 66 430 u [128]. Unter diesen Aminosäuren befinden sich 59 Lysine, die bei entsprechender Zugänglichkeit für die Biotinilierung genutzt werden können, und 35 Cysteine. Von letzteren bilden 34 strukturgebende Disulfidbrücken, während eines, das Cys34, ein freies Thiol hat [129, 130], was, wie wir sehen werden, für die Bindung auf Gold eine besondere Bedeutung hat.

Als räumliche Struktur des Rinderserumalbumins wurde und wird teilweise auch noch eine zigarrenförmige Geometrie mit Achsen von 140 nm und 40 nm angenommen; Röntgenstrukturdaten an humanem Serumalbumin ergeben allerdings im Widerspruch dazu eine herzförmige Konformation [130, und Referenzen darin]. Mit dieser eher im Einklang wäre die von [131] vorgeschlagene Geometrie eines geraden Prismas, dessen Grundfläche ein gleichseitiges Dreieck mit Seitenlänge 8,4 nm ist und dessen Höhe 3,15 nm misst.

Der isoelektrische Punkt pI von Rinderserumalbumin liegt zwischen 4,7 und 4,9 [132].

Gold-Protein-Konjugate

Goldnanopartikel besitzen nach der Synthese eine Citrathülle, die für eine negative Ladung sorgt und so verhindert, dass die Nanopartikel zusammenklumpen und ausfallen. Diese Citrathülle kann nun gegen eine Schicht von Proteinen ausgetauscht werden, die neben der Funktion, das Goldkolloid stabil zu halten, noch weitere Funktionalitäten wie etwa das Verankern von Biotinen auf der Goldoberfläche übernehmen kann. An der Bildung und Stabilität von solchen Gold-Protein-Konjugaten sind im wesentlichen drei Wechselwirkungen beteiligt (Abb. 2.13), deren Zusammenspiel und relative Wichtigkeit von Fall zu Fall variieren und insgesamt noch nicht gut verstanden sind [133]. Es sind dies:

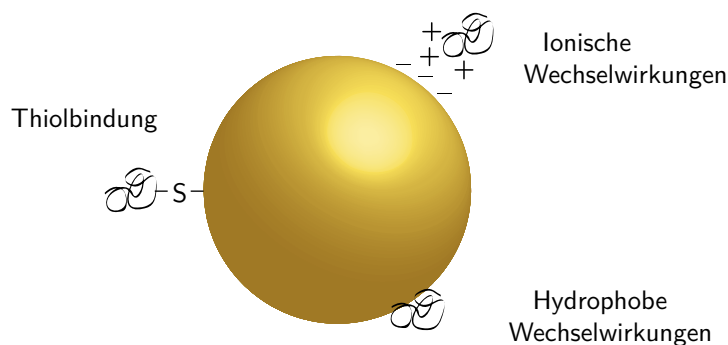


Abbildung 2.13: Wechselwirkungen, die zur Bindung von Proteinen auf Gold beitragen.

- elektrostatische Anziehung zwischen negativ geladenem Goldnanopartikel und positiv geladenem Protein
- Adsorptionsphänomene wie das Anlagern hydrophober Bereiche des Proteins auf der Metalloberfläche
- kovalente Bindung freier Thiol-Gruppen (-SH) des Proteins an die Goldoberfläche

In der Regel erfordert die Herstellung stabiler Goldkonjugate die Einstellung des pH-Wertes und der Ionenstärke des Puffers sowie die Wahl geeigneter Konzentrationen von Goldnanopartikeln und Proteinmolekülen. Der Austausch der Citrathülle durch eine Proteinhülle erfolgt dann, indem die Proteine unter stetigem Rühren zur Nanopartikellösung zugegeben werden. Das genaue Protokoll findet sich z. B. in [133, Kap. 14]. Ungebundenes Protein wird sodann durch Ultrafiltration oder Dialyse abgetrennt. Der Erfolg der Konjugation kann indirekt nachgeprüft werden, indem man die Menge des ungebundenen Proteins misst, oder direkt, indem man die Zunahme des hydrodynamischen Radius der Nanopartikel per Photonenkorrelationsspektroskopie misst.

Konjugation von Goldnanopartikeln mit biotiniliertem Rinderserumalbumin

Die in dieser Arbeit verwendeten Goldnanopartikel-Konjugate wurden bei Roche Diagnostics hergestellt. Das Rinderserumalbumin wurde mit Biotin-X-OSu biotiniliert, dabei wurden fünf Biotine pro Albumin angeboten. Das biotinilierte Serumalbumin wurde dann wie im vorangegangenen Abschnitt beschrieben auf Goldpartikel mit 40 nm Durchmesser aufgebracht. Dabei wurden Goldnanopartikel verwendet, die nach dem Seed-Gold-Verfahren [47] hergestellt wurden und daher einheitliche Form und Größe besitzen. Die Goldpartikel wurden sodann mit nichtfunktionalisiertem Rinderserumalbumin abgesättigt. Der hydrodynamische Radius (s. u.) der Partikel beträgt nach Konjugation 28 nm bei pH 7,7 gegenüber 20 nm vorher.

2.5.3 Zetapotential funktionalisierter Nanopartikel

Entscheidend für die Herstellung von Nanopartikeldimeren mit hoher Ausbeute ist die Einstellung der elektrostatischen Abstoßung zwischen den funktionalisierten Partikeln. Quantitativ kann diese Abstoßung als Zetapotential gemessen werden.

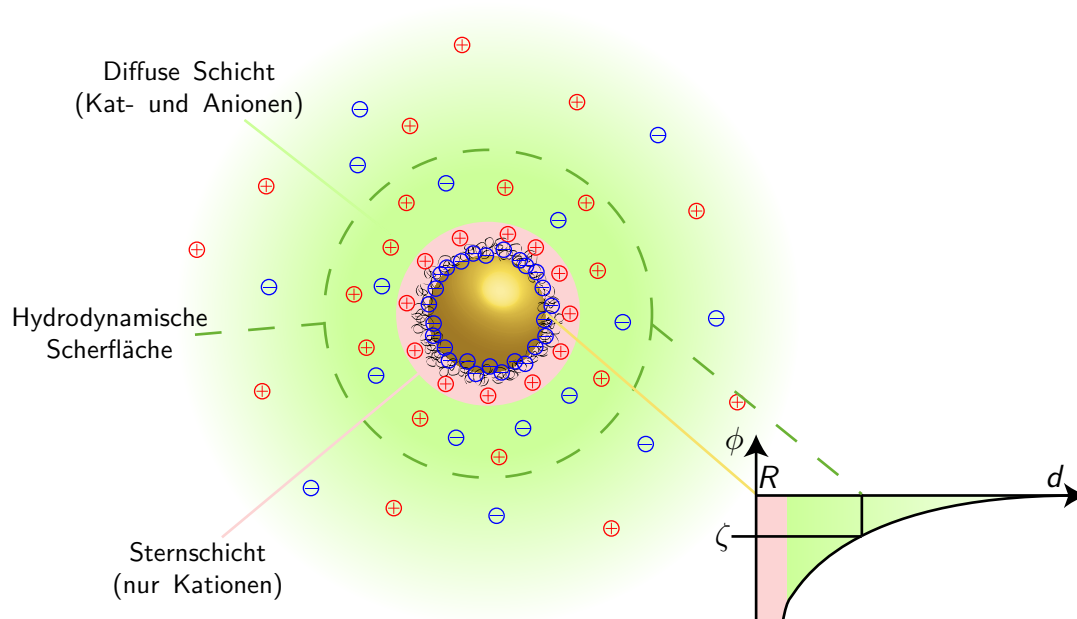


Abbildung 2.14: Ionenschichten um ein kolloidales Partikel, Zetapotential. Bei einem negativen Partikel besteht die innerste Schicht um das Partikel, die Stern-Schicht, ausschließlich aus Kationen. Die folgende Diffuse Schicht besteht aus Kationen und Anionen. In ihr befindet sich die hydrodynamische Scherfläche, innerhalb derer die Ionen dem Partikel bei seiner Diffusionsbewegung folgen. Das Potential an der hydrodynamischen Scherfläche ist das Zetapotential. Die Zeichnung ist nicht maßstabsgetreu. Nach [134].

Ein geladenes Partikel, das sich in wässriger Lösung bewegt, ist stets von einer Ionenwolke umgeben. Diese besteht aus einer inneren Schicht, der Stern- oder Helmholtzschicht, die ausschließlich Gegenionen zur Partikelladung enthält und einer Diffusen Schicht, die Ionen beider Ladungen enthält. Innerhalb der Diffusen Schicht befindet sich die hydrodynamische Scherfläche, eine gedachte Grenzfläche, innerhalb derer die Ionen dem Partikel bei seiner diffusiven Bewegung folgen. Bei einem kugelförmigen Partikel ist diese Fläche sphärisch, und man nennt ihren Radius den hydrodynamischen Radius R_H des Partikels.

Das geladene Partikel hat gegenüber der Umgebung, deren Potential weit entfernt von dem Partikel auf Null gesetzt wird, ein elektrostatisches Potential $\phi(0)$. Das Potential in der Ionenwolke um das Partikel fällt aufgrund der Abschirmung durch die Gegenionen mit zunehmendem Abstand vom Partikel stark ab (Abb. 2.14). Seinen Wert an der hydrodynamischen Scherfläche

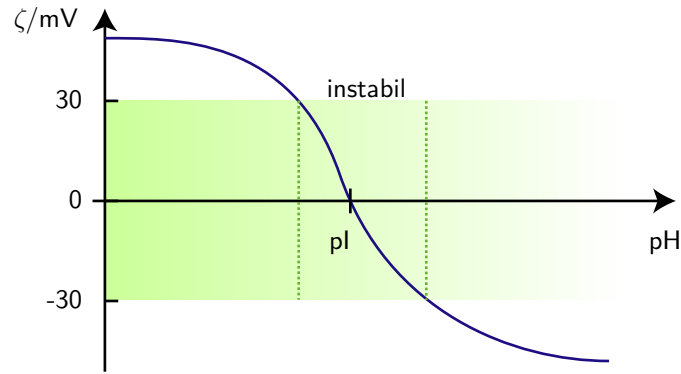


Abbildung 2.15: pH-Abhängigkeit des Zetapotentials, Schema. Typische Abhängigkeit des Zetapotentials eines Proteins vom pH-Wert. Bei niedrigen pH-Werten führt die Protonierung basischer Aminosäurereste zu positiver Ladung und positivem Zetapotential, bei hohen pH-Werten führt die Deprotonierung saurer Aminosäurereste zu negativer Ladung und negativem Zetapotential. Als Faustregel wird ein Kolloid als stabil angesehen, wenn $|\zeta| > 30$ mV. Der pH-Wert, bei dem das Zetapotential durch Null geht, das diffundierende Partikel also effektiv ungeladen ist, heißt isoelektrischer Punkt pI.

nennt man das Zetapotential ζ .

Der Betrag des Zetapotentials entscheidet über die elektrostatische Abstoßung der Partikel und damit über die Wahrscheinlichkeit, dass sich zwei Partikel nahe genug kommen, um aneinander zu binden. Gemäß der nach den Initialen der Autoren benannten DLVO-Theorie [135, 136] hat das repulsive Potential¹ zwischen zwei gleichen kugelförmigen Partikeln die Form [134, 137]

$$V_{\text{rep}} = 2 \Pi \varepsilon_0 \varepsilon_{\mathcal{A}} R \zeta^2 \exp(-\kappa \tilde{d}) \quad (2.5.1)$$

wobei Π die Permeabilität des Lösungsmittels, \tilde{d} der Oberflächenabstand der Partikel und κ die Debye-Hückelsche Abschirmlänge sind. Letztere ist bestimmt durch die Ionenstärke $\mathfrak{I} = \frac{1}{2} \sum_i c_{\text{mol},i} Z_i^2$ der Lösung gemäß $\kappa = \left(2 N_A e^2 \mathfrak{I} / (\varepsilon_0 \varepsilon_{\mathcal{A}} k_B T) \right)^{\frac{1}{2}}$. Hierbei sind $c_{\text{mol},i}$ die molare Konzentration und Z_i die Ladungszahl einer Ionensorte, e die Elementarladung, k_B die Boltzmann-Konstante, T die Temperatur und N_A die Avogadrozahl.

pH-Abhängigkeit des Zetapotentials

Die Ladung von Proteinen rührt hauptsächlich von deprotonierten Carbonsäuren, von Glutaminsäure- und Asparaginsäureresten sowie von der Protonierung der freien Aminogruppe von Lysin-, des Imidazolrings von Histidin- und des Guadinins von Argininresten. Ob diese Gruppen jeweils protoniert oder deprotoniert vorliegen, hängt von der Verfügbarkeit von Protonen in der Lösung, also vom pH-Wert ab. Deshalb bestimmt der pH-Wert der kolloidalen Lösung Ladung und Zetapotential von Proteinen und proteinfunktionalisierten Goldpartikeln. Eine typische

¹Das durch Van-der-Waals-Kräfte bewirkte attraktive Potential hat die Form $V_{\text{att}} = -\mathfrak{H}A/(12\tilde{d})$, wobei \mathfrak{H} die sogenannte Hamaker-Konstante ist [137].

2.5 Proteine als Verbinder für Nanopartikel

Abhängigkeit ist schematisch in Abbildung Abb. 2.15 gezeigt. Der spezielle pH-Wert, bei dem das Zetapotential verschwindet, heißt isoelektrischer Punkt, abgekürzt pI. Durch die Wahl eines geeigneten pH-Wertes lässt sich also über das Zetapotential die wechselseitige Abstoßung der Partikel Gl. (2.5.1) einstellen.

3 Experimentelle Methoden zur Untersuchung kleiner Nanopartikelaggregate

In diesem Kapitel werden die zur Untersuchung kleiner Nanopartikelaggregate eingesetzten Methoden beschrieben.

Zunächst werden dabei kurz einige Techniken vorgestellt, mit denen die Eigenschaften einer großen Zahl von Nanopartikeln im statistischen Mittel gemessen werden. Sie erlauben, bei der Synthese der Nanopartikelaggregate verschiedene Parameter zu überprüfen bzw. die Produkte aufzutrennen und die Ausbeute an Dimeren zu messen.

Im zweiten Teil werden etwas ausführlicher die Mikroskopiemethoden eingeführt, die Messungen an einzelnen Nanopartikeldimeren ermöglichen und damit zu den Hauptresultaten dieser Arbeit geführt haben.

3.1 Präparationsbegleitende Ensemblemessungen

3.1.1 Extinktionsspektroskopie

Wie im Abschnitt über die optischen Eigenschaften kleiner Nanopartikelaggregate erläutert unterscheidet sich der Extinktionsquerschnitt von Aggregaten zumindest in der longitudinalen Mode deutlich vom Extinktionsquerschnitt eines Einzelpartikels. Insbesondere unterscheiden sich die Wellenlänge, bei der das plasmonbedingte Maximum der Extinktion auftritt, und auch die spektrale Breite dieses Maximums.

Im Ensemble kann der spektrale Verlauf des Extinktionsquerschnittes einer Probe von Nanopartikeln über ihr Extinktionsspektrum gemessen werden. Es wird dabei über verschiedene Partikelzahlen im Aggregat, verschiedene Aggregatgeometrien und verschiedene Orientierungen der Aggregate gemittelt, so dass bei der Bildung kleiner Aggregate nur eine recht geringe Rotverschiebung und Verbreiterung der Plasmonresonanz gemessen wird. Das Ausmaß der Rotverschiebung und Verbreiterung kann bei der Herstellung der Nanopartikeldimere als grobes Maß für den Anteil an Partikeln, die Teil von Aggregaten sind, genutzt werden.

Zur Messung des Extinktionsspektrums kommt das in Abb. 3.1 skizzierte Spektrophotometer Varian Cary 50 zum Einsatz. Eine Xenonblitzlampe dient als gepulste Weißlichtquelle, die

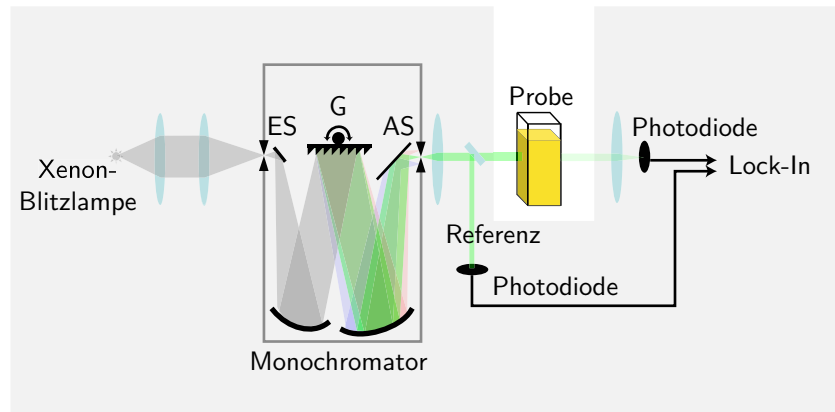


Abbildung 3.1: Varian Cary-50 Spektrophotometer zur Extinktionsmessung, Schema. Das Spektrophotometer besteht im wesentlichen aus einer gepulsten Weißlichtquelle, einem Monochromator, Detektoren zur Messung von Anregungsleistung und transmittierter Leistung und einem Lock-In-Verstärker. Als Monochromator ist ein Czerny-Turner-Gittermonochromator mit beweglichem Gitter (G), sowie einstellbaren Ein- und Austrittsspalten (ES, AS) eingebaut.

Auswahl des Wellenlängenbereichs erfolgt mit einem Czerny-Turner-Gittermonochromator sowie geeigneten Glasfiltern. Gemessen und verglichen werden einfallende und transmittierte Lichtleistung, wobei Lock-In-Detektion das Spektrometer gegen Raumlicht unempfindlich macht. Aus dem Verhältnis der einfallenden und der transmittierten Leistung wird der Transmissionsgrad \mathcal{T} der Probe bei gegebener Wellenlänge berechnet. Nach dem Lambert-Beerschen-Gesetz ergibt sich der Transmissionsgrad der Probe aus dem mittleren Extinktionsquerschnitt pro Nanopartikel $\overline{\sigma_{\text{ext}}}$, der molaren Konzentration c_{mol} der Nanopartikel und der Länge des Lichtwegs ℓ durch die Probe zu

$$\mathcal{T} = \exp(-N_A \overline{\sigma_{\text{ext}}} c_{\text{mol}} \ell) \quad (3.1.1)$$

Für gewöhnlich wird statt des Transmissionsgrades die zum Extinktionsquerschnitt proportionale Optische Dichte

$$OD = -\log_{10} \mathcal{T} \quad (3.1.2)$$

verwendet. Dabei muss im Prinzip ℓ stets mit angegeben werden, in der Literatur wird allerdings oft, ohne ausdrücklich darauf hinzuweisen, von $\ell = 1 \text{ cm}$ ausgegangen.

3.1.2 Zetapotentialmessung mittels Phasenanalysen-Lichtstreuung

Die Messung des Zetapotentials erfolgt mit einem Malvern Zetasizer Nano ZS. Das Zetapotential wird hier indirekt über die elektrophoretische Beweglichkeit μ_{el} bestimmt. Auf ein Partikel mit

3.1 Präparationsbegleitende Ensemblemessungen

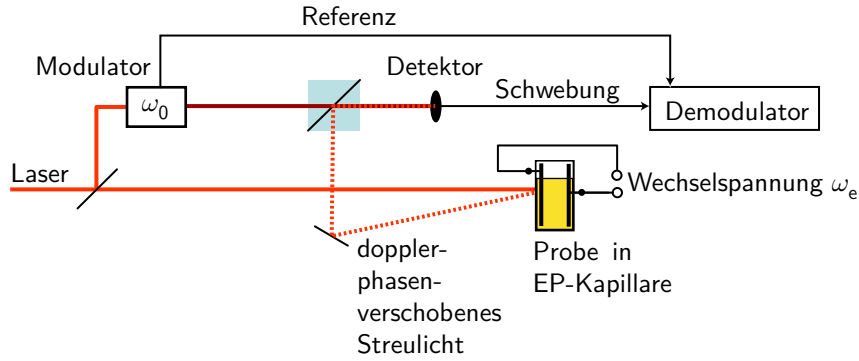


Abbildung 3.2: Prinzipskizze der Phasenanalysen-Lichtstreuung (PALS, Zetasizer). Die elektrophoretische Mobilität wird aus der zeitabhängigen Doppler-Phasenverschiebung des Lichtes bestimmt, das von dem einem elektrischen Wechselfeld ausgesetzten Kolloid gestreut wird.

effektiver Ladung $Q = 4\pi \varepsilon_0 \varepsilon_{\mathcal{A}} \zeta R_H$ wirkt in einem elektrischen Feld E die Coulombkraft

$$F = QE = 4\pi \varepsilon_0 \varepsilon_{\mathcal{A}} \zeta R_H E \quad (3.1.3)$$

Der Beschleunigung durch die Coulombkraft wirkt die Stokes-Reibung entgegen, bei einem kugelförmigen Partikel

$$F = -6\pi \tilde{\eta} R_H v \quad (3.1.4)$$

wobei $\tilde{\eta}$ die Viskosität des Lösungsmittels und v die Geschwindigkeit des Partikels symbolisieren. Im Gleichgewicht folgt daher die Henry-Gleichung [138]

$$\zeta = \frac{3}{2} \frac{\tilde{\eta}}{\varepsilon_0 \varepsilon_{\mathcal{A}}} \frac{\|v\|}{\|E\|} =: \frac{3}{2} \frac{\tilde{\eta}}{\varepsilon_0 \varepsilon_{\mathcal{A}}} \mu_{el} \quad (3.1.5)$$

Tatsächlich ist der Vorfaktor nicht wie hier exakt $3/2$, sondern eine Funktion von κR [138].

Das Zetapotential kann also durch Messung der elektrophoretischen Beweglichkeit bestimmt werden. Dazu wird im Zetasizer das in Abb. 3.2 dargestellte Verfahren der Phasenanalysen-Lichtstreuung (PALS) [139, 140] benutzt. Hierbei wird die Probe elektrisch kontaktiert und einem elektrischen Wechselfeld der Frequenz ω_e ausgesetzt, dadurch werden die Partikel beschleunigt und bewegen sich mit der Geschwindigkeit $v(t) = \sin(\omega_e t) \mu_{el} \|E_0\|$. Licht von einer Laserquelle wird in einen Referenzstrahl und einen Probenstrahl geteilt. Der an der Probe gestreute Probenstrahl hat zum Zeitpunkt t eine Dopplerphasenverschiebung

$$\Delta\Phi(t) = \int_0^t v(t') \cdot q \, dt' = \mu_{el} E_0 \cdot q \frac{\cos \omega_e t}{\omega_e} \quad (3.1.6)$$

wobei $q = k_f - k_i$ der Impulsübertragsvektor der Lichtstreuung ist. Der Referenzstrahl wird mit

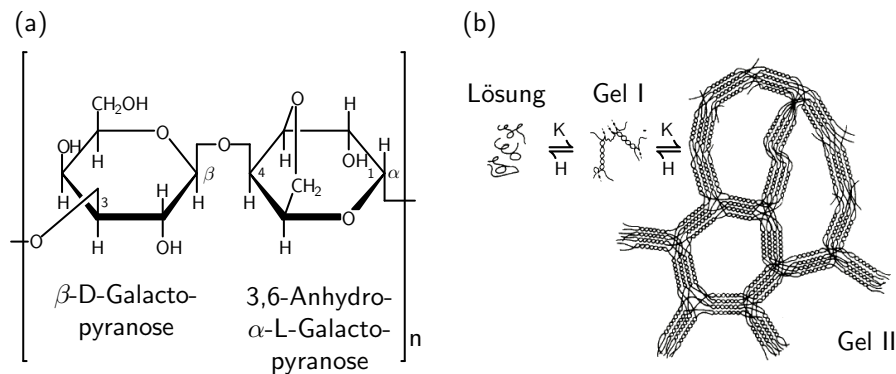


Abbildung 3.3: Agarose-Gele. (a) Struktur der Agarose. (b) Geliermechanismus der Agarose. Adaptiert nach [144]. Bei hoher Temperatur liegt das Polysaccharid zufällig aufgewickelt und einzeln vor. Bei niedrigerer Temperatur bilden sich Doppelhelizes aus, die sich durch weiteres Kühlen zum Gelnetzwerk verknüpfen. Der Prozess ist reversibel, jedoch erfolgt der Schmelzübergang beim Heizen (H) des Gels bei höherer Temperatur als die Erstarrung des Gels beim Kühlen (K).

ω_0 frequenzmoduliert. Der gestreute Probenstrahl und der modulierte Referenzstrahl werden auf dem Detektor überlagert und erzeugen dort ein Signal $S(t) = A \exp(-i(\omega_0 t + \Delta\Phi(t)))$. Dieses kann durch Multiplikation mit dem Referenzsignal $S_{\text{ref}}(t) = \exp(i(\omega_0 t))$ demoduliert werden, so dass die Dopplerphasenverschiebung $\Delta\Phi(t)$ und aus dieser nach Gl. (3.1.6) die elektrophoretische Mobilität und damit nach Gl. (3.1.5) das Zetapotential erhalten werden.

3.1.3 Nanopartikel-Gelelektrophorese

Die Agarose-Gelelektrophorese wurde in den 50er Jahren des 20. Jahrhunderts als Methode zur Auftrennung von Proteingemischen entwickelt [141, 142]. Später wurde sie zur Standardmethode für die Auftrennung längerer DNS-Fragmente nach ihrem Molekulargewicht [143]. Eine ausführliche Darstellung der Geschichte der Methode und ihrer verschiedenen Einsatzgebiete findet sich zum Beispiel in [144].

Bei der Gelelektrophorese wandern geladene Partikel unter dem Einfluss eines konstanten elektrischen Feldes durch eine wässrige, poröse Matrix. Positiv geladene Partikel laufen zur Kathode und negativ geladene Partikel zur Anode. Die Geschwindigkeit hängt dabei von der effektiven Ladung des Partikels, genauer seinem Zetapotential, und von der Partikelgröße ab. Ein größeres Partikel erfährt im Gel mehr Reibung als ein kleineres und ist deshalb langsamer; ein stärker geladenes Partikel erfährt eine größere Coulombkraft und ist deshalb schneller als ein gleich großes schwächer geladenes Partikel. Auf diese Weise erfolgt eine Auftrennung der Probe in verschiedene Fraktionen unterschiedlicher Partikelgröße und -ladung. Sind diese Größen diskret verteilt, so erhält man im Gel mehrere Banden. Der Abstand der Banden wächst mit zunehmender Feldstärke und Laufzeit, gleichzeitig wächst in der Regel allerdings auch ihre Breite.

3.1 Präparationsbegleitende Ensemblemessungen

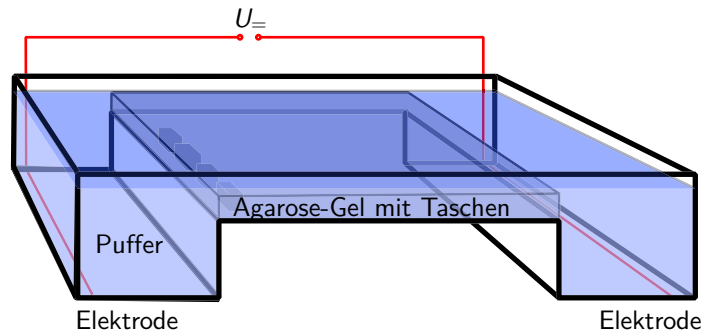


Abbildung 3.4: Apparat zur submarinen Gelelektrophorese. Das Gel ist vollständig in den Elektrophorese-Puffer eingetaucht. In dieser Anordnung befindet sich das Gel horizontal zwischen den beiden Elektroden. Die Beladung des Gels erfolgt in Taschen, die beim Guss durch einen von oben eingesetzten Kamm freigehalten werden. Das Elektrophorese-Netzgerät kann sowohl spannungs- als auch strombegrenzt betrieben werden.

Agarose ist ein lineares Polysaccharid, das aus abwechselnden D-Galactose- und 3,6-Anhydro-L-Galactose-Einheiten besteht (Abb. 3.3). Ein Elektrophorese-Gel wird hergestellt, indem die Agarose durch Erhitzen im Elektrophorese-Puffer bei 80°C bis 100°C gelöst wird. Die Lösung wird leicht vorgekühlt und in die Gelform gegossen, ein Kamm zur Erzeugung von Geltaschen für die Beladung mit den Proben wird eingesetzt, und bei Abkühlung unter ca. 30°C bis 40°C erfolgt der Übergang zum Gel. Die Porengrößenverteilung des Gels ist sehr breit [144, 145]. Die mittlere Porengröße ist im wesentlichen bestimmt durch den Gewichtsanteil A der Agarose in der Lösung, daneben hängt sie vom eingesetzten Agarosetyp ab. Üblicherweise wird der Zusammenhang als Potenzgesetz formuliert. Serwer [144] gibt für IsoGel-Agarose die Formel

$$\bar{p} = 140,7 \text{ nm} \times (100 A)^{-0,7} \quad (3.1.7)$$

an. Die Porengröße kann auch direkt mit dem Rasterkraftmikroskop gemessen werden, Pernodet et al. [145] erhalten auf diese Weise¹

$$\bar{p} = 574,7 \text{ nm} \times (100 A)^{-0,64} \quad (3.1.8)$$

Ackers und Steere [146] geben für ein einprozentiges Agarose-Gel einen Porenradius von 120 nm an. Die Angaben zur Porengröße aus verschiedenen Quellen sind also kaum miteinander in Einklang zu bringen. Wir können nur festhalten, dass in einem einprozentigen Agarose-Gel die mittlere Porengröße zwischen 120 nm und einigen hundert Nanometern liegt.

¹Der Wert von $\bar{p}(A = 0,01) = 574,7 \text{ nm}$ ist in [145] nicht genannt. Der angegebene Wert wurde daher bestimmt, indem die quadratische Abweichung zwischen den Messpunkten aus [145] und den mittels Gl. (3.1.8) berechneten Daten minimiert wurde.

Gelelektrophorese zur Separierung von Nanopartikeln

Zur Auftrennung von Nanopartikelfraktionen wurde die Gelelektrophorese erstmals 1998 eingesetzt und zwar für kleine Goldcluster mit Durchmessern von 0,9 nm [147]. In der Gruppe von Paul Alivisatos wurde die Technik dann auf Nanopartikel mit Durchmessern zwischen 5 nm und 10 nm angewandt und wesentlich weiterentwickelt [148–153]. In den Alivisatosschen Arbeiten wird die Elektrophorese hauptsächlich dazu genutzt, Goldnanopartikel mit einer genau definierten Anzahl von DNS-Strängen zu erhalten. Diese Nanopartikel-Fraktionen können dann zur kontrollierten Herstellung von Nanopartikeldimeren, Trimeren [148, 150, 152] und höheren Aggregaten [153] genutzt werden. Die direkte Auftrennung von fertigen DNS-verknüpften Aggregaten wurde erstmals im Jahr 2005 veröffentlicht [153] – in etwa zeitgleich zu dem in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Einsatz der Gelelektrophorese zum Auftrennen proteinverknüpfter Aggregate von Nanopartikeln mit 40 nm Durchmesser. In einer kürzlich erschienenen Studie wurden einzelne Nanopartikel unterschiedlicher Form und Größe per Gelelektrophorese separiert [154].

In der vorliegenden Arbeit wird die Gelelektrophorese dazu genutzt, nach der Mischung der Biotin-funktionalisierten Nanopartikel mit Streptavidin die Dimerfraktion zu isolieren. Die Gelelektrophorese wird in einem einprozentigen Agarose-Gel mit $1 \times \text{TAE-Puffer}^1$ bei pH 8,3 durchgeführt. Bei diesem pH-Wert sind die BSA-funktionalisierten Goldnanopartikel ($pI \approx 4,8$) stark negativ geladen (vgl. Abb. 2.15) und wandern dementsprechend von der Kathode zur Anode. Es erfolgt eine Auftrennung der verschiedenen großen Aggregate und der Einzelpartikel in separat diffundierende Banden. Näheres hierzu findet sich im Ergebnisteil in Abschnitt 4.2.

Bei der DNS-Gelelektrophorese wird ein interkalierender Fluoreszenzfarbstoff verwendet, um die Banden im UV-Licht nachzuweisen. Bei der Elektrophorese von Goldnanopartikeln ist dies nicht nötig, da die Plasmonabsorption die Nanopartikelbanden im Tageslicht sichtbar macht, wenn eine hochkonzentrierte Ausgangslösung eingesetzt wird. In dieser Arbeit wird eine Ausgangslösung mit Optischer Dichte $OD(520 \text{ nm}; 1 \text{ cm}) = 2$ verwendet.

Extraktion der Nanopartikeldimere aus dem Gel

Für Messungen an einzelnen Nanopartikeldimeren muss die Dimer-Bande aus dem Gel extrahiert werden. Die dazu in der Alivisatos-Gruppe eingesetzte Technik, die Partikel in einen Filter laufen zu lassen und aus diesem herauszuzentrifugieren [148], erbrachte keine Proben mit ausreichender Qualität für optische Einzeldimmermessungen.

Bessere Ergebnisse konnten mit der in Abb. 3.5 dargestellten Methode der Elektroelution erzielt werden. Dabei wird die Gelbande mit einem Skalpell aus dem Gel herausgeschnitten und in einen mit Puffer gefüllten Dialyseschlauch eingeschlossen. Der Dialyseschlauch wird dabei

¹Tris-Acetat-EDTA Puffer bestehend aus 40 mM Tris(hydroxymethyl)-aminomethanacetat und 10 mM Ethylen-diamintetraacetat in destilliertem, entionisiertem Wasser.

3.1 Präparationsbegleitende Ensemblemessungen

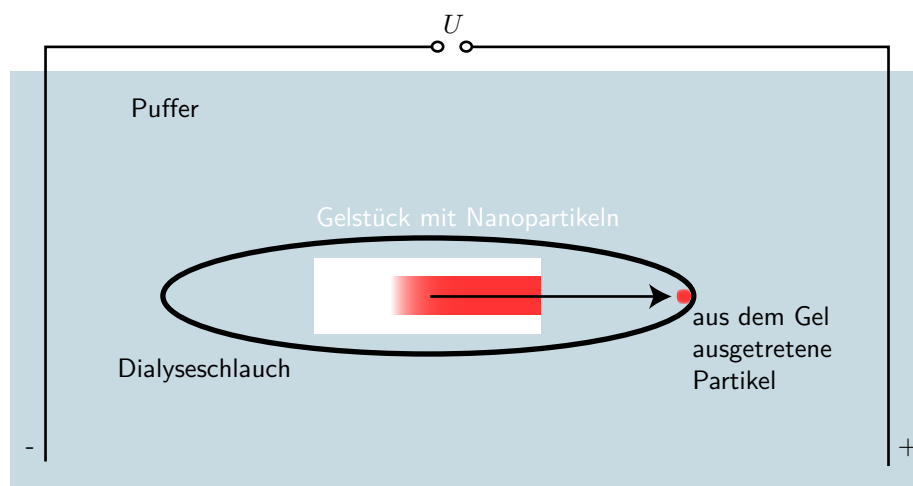


Abbildung 3.5: Schema der Gelextraktion mittels Elektroelution. Der Dialyseschlauch wird an den Seiten (vor und hinter der Bildebene) durch Klammern verschlossen.

so gewählt, dass die Nanopartikel ihn nicht passieren können.¹ Dann wird der Schlauch mit der Gel-Bande noch einmal im Pufferbad dem elektrischen Feld ausgesetzt. Die Nanopartikel treten dabei aus dem Gel und sammeln sich an der der Anode zugewandten Innenwand des Dialyseschlauches. Sind die Nanopartikel vollständig aus dem Gel ausgetreten, so wird die Richtung des angelegten Feldes für einige Sekunden umgekehrt, um die Partikel von der Dialysemembran zu lösen. Die Partikel sind nun im Puffer gelöst und können mit diesem aus dem Dialyseschlauch herauspipettiert werden. Um eventuell vorhandene Gelfragmente abzutrennen, wird die Lösung noch durch einen wenig proteinbindenden Celluloseacetat-Spritzenfilter mit Porengröße 200 nm gedrückt.

Bei der Gelextraktion gehen in der Regel mehr als 80 % der Partikel verloren. Die Hauptverluste entstehen dadurch, dass sich die Nanopartikel nur schlecht von der Wand des Dialyseschlauches ablösen lassen. Darüber hinaus gibt es größere Verluste dadurch, dass Nanopartikel an der Schnittkante des Gels hängenbleiben und deshalb nicht aus dem Gel austreten, sowie dadurch, dass Nanopartikel bei der Filtration im Spritzenfilter verbleiben.

Die Verluste sind allerdings für die Einzeldimerspektroskopie nicht gravierend, da die resultierende Dimerlösung zur Messung hier immer noch um einen Faktor 1 000 bis 10 000 mit Wasser verdünnt werden muss. Falls in der Zukunft für Ensemblemessungen höher konzentrierte Proben benötigt werden, sollte untersucht werden, ob das Herauslösen der Dimere aus dem Gel durch Diffusion ohne äußeres Feld [153] eine höhere Ausbeute ergibt. Diese Extraktionsmethode hat freilich den Nachteil, dass sie wesentlich langsamer ist als die Elektroelution.

¹Für die vorliegende Arbeit wurde ein Dialyseschlauch mit einem Molecular Weight Cutoff von 5000 eingesetzt, das heißt, nur sehr kleine Moleküle mit einer Masse von weniger als 5000 u können diesen Schlauch passieren.

3.2 Mikroskopie einzelner Dimere

Die bisher beschriebenen Methoden der Extinktionsspektroskopie, Phasenanalysen-Lichtstreuung und Nanopartikel-Gelelektrophorese vereint, dass mit Ihnen statistische Ensembles aus einer großen Zahl $\sim N_A$ von Nanopartikeln untersucht werden können. Damit erlauben sie eine grobe Charakterisierung der Proben, aber die physikalisch interessanten Effekte bleiben weitgehend durch die Heterogenität der Proben verborgen. Bei kleinen Aggregaten ist diese Heterogenität noch deutlich größer als bei einzelnen Nanopartikeln. Nehmen wir als Beispiel die Extinktionsspektroskopie. An Proben einzelner Nanopartikel misst man eine inhomogene Verbreiterung der Plasmonresonanz, da die Größe der Nanopartikel typischerweise um ca. 10 % schwankt und da die einzelnen Nanopartikel Abweichungen von der sphärischen Form zeigen. Bei Nanopartikeldimeren kommt zum einen als zusätzlicher, statistisch verteilter Parameter der Abstand der Nanopartikel hinzu, zum anderen auch noch die zufällig verteilte Orientierung der Dimere gegenüber dem einfallenden Licht. Da nun aber die Plasmonresonanz eines Dimers drastisch von Orientierung und Partikelabstand abhängt (vgl. Abb. 2.3), bleibt der Effekt der Dimerbildung im Ensemble schwach (vgl. Abschnitt 4.1).

Daher erfordert die Untersuchung kleiner Nanopartikelaggregate Methoden, die es erlauben, z. B. ein einzelnes Nanopartikelpaar zu isolieren und zu vermessen. In diesem Kapitel werden vier derartige Methoden vorgestellt. Die Transmissionselektronenmikroskopie gibt im wesentlichen geometrische Informationen über die Probe. Streu-, Raman- und Fluoreszenz-Mikroskopie erlauben die Untersuchung der optischen Eigenschaften einzelner Nanopartikeldimerresonatoren.

3.2.1 Transmissionselektronenmikroskopie

Die besonderen optischen Eigenschaften der Goldnanopartikel hängen wesentlich damit zusammen, dass Ihre Abmessungen deutlich kleiner als die Wellenlänge des sichtbaren Lichts sind. Da aber die im Fernfeld erreichbare optische Auflösung beugungsbegrenzt ist, heißt dies gleichzeitig, dass Nanostrukturen aus Nanopartikeln mit Lichtwellen nicht aufgelöst werden können.

Möglich wird dies jedoch, wenn man statt Licht Elektronen zur Abbildung verwendet. Durchlaufen Elektronen eine Potentialdifferenz U , so ist ihre de-Broglie-Wellenlänge $\lambda_{dB} = \frac{h}{\sqrt{2m_e eU}}$. Dabei ist h die Planck-Konstante und m_e die Elektronenmasse. Durch Erhöhung der Beschleunigungsspannung lässt sich also die Wellenlänge der Elektronen im Prinzip beliebig klein machen, theoretisch können also mit Elektronenwellen beliebig hohe Auflösungen erzielt werden.

Im Transmissionselektronenmikroskop [155, 156] wird mit magnetischen Linsen ein Elektronenstrahlengang erzeugt, der im wesentlichen der Durchlichtabbildung im optischen Mikroskop entspricht (Abb. 3.6). Elektronen streuende oder absorbierende Partien der Probe erscheinen im Bild dunkler als die Umgebung. Die tatsächlich erreichbare Auflösung hängt von den Aberrationen der Elektronenoptik und von dem Streuvermögen der Probe ab. An Proben mit schweren Atomen wie Gold sind Auflösungen bis zu 0,1 nm möglich. Das in dieser Arbeit eingesetzte

3.2 Mikroskopie einzelner Dimere

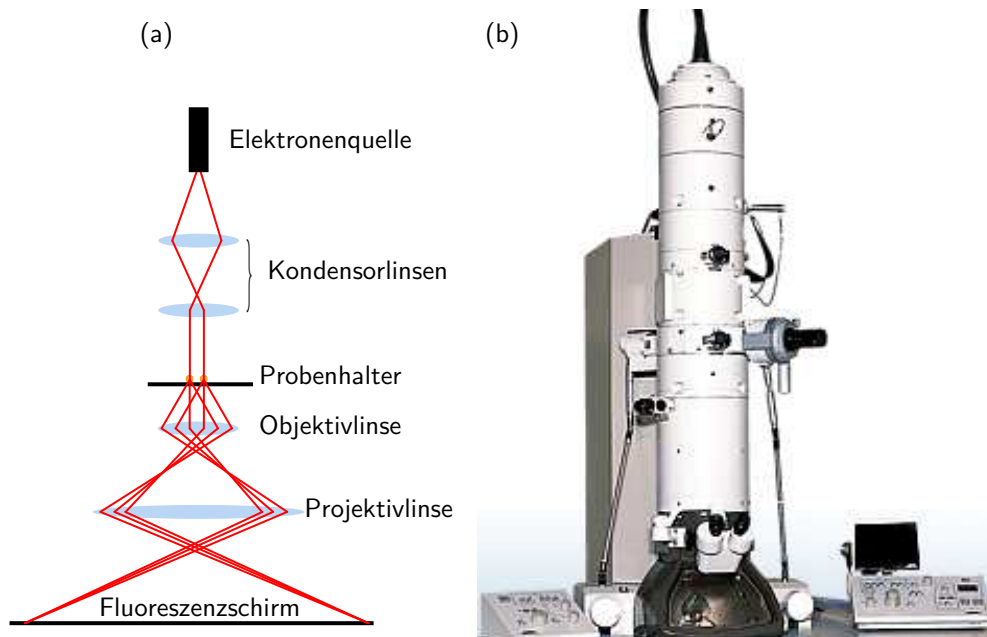


Abbildung 3.6: Transmissionselektronenmikroskop. (a) Vereinfachter Strahlengang. (b) JEOL JEM 1011. Ein solches Elektronenmikroskop wurde für die Messungen in dieser Arbeit eingesetzt. Bild: JEOL (Germany) GmbH.

Elektronenmikroskop JEOL JEM 1011 erreicht bei einer maximalen Beschleunigungsspannung von 100 kV eine Auflösung von 0,4 nm.

Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen in dieser Arbeit wurden zusammen mit Andrei Sussha angefertigt.

3.2.2 Elastische Streuspektroskopie einzelner Nanopartikeldimere

Verdünnst man eine Probe von Nanopartikeln oder Dimeren stark genug, so kann man auf einem Substrat einzelne von ihnen isolieren und im Mikroskop ihr elastisch gestreutes Licht aufsammeln und spektroskopieren. Wichtig ist dabei, dass nur das von den Partikeln gestreute Licht und nicht das Anregungslicht vom Mikroskop-Objektiv aufgesammelt werden. Dies lässt sich mit verschiedenen Methoden erreichen: So kann die Probe mit dem evaneszenten Feld einer an der Substrat-Luft-Grenze totalreflektierten Lichtwelle angeregt werden, es kann in Rückstreuung gemessen werden oder es kann – wie in dieser Arbeit – die in Abb. 3.7 dargestellte Methode der Dunkelfeldmikroskopie [4, 51, 157] eingesetzt werden.

Bei der Dunkelfeldmikroskopie sorgt ein spezieller Kondensor dafür, dass das Licht ausschließlich unter flachen Winkeln auf die Probe fällt, so dass in Abwesenheit eines Streuers kein Licht detektiert wird. Von einer Nanostruktur gestreutes Licht wird dagegen vom Mikroskop aufgesammelt und als heller Punkt in der Farbe der Plasmonresonanz abgebildet.

Im hier verwendeten Aufbau dient eine 100 W-Halogenlampe als Lichtquelle. Ein Kurzpassfilter

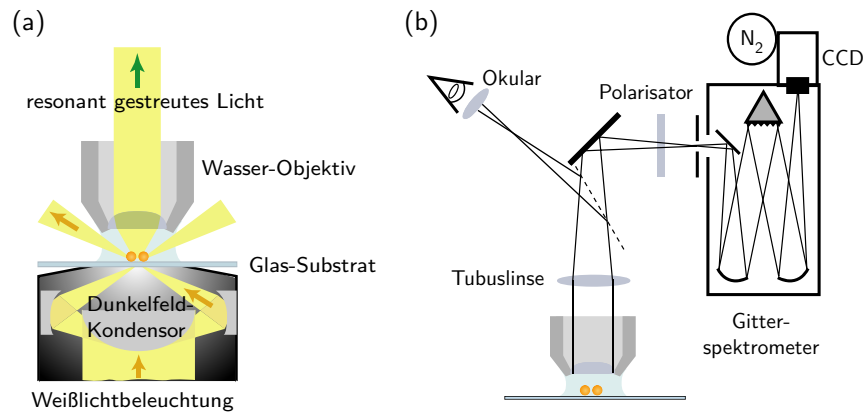


Abbildung 3.7: Dunkelfeldmikroskop. (a) Kondensor, Probe und Objektiv. Durch einen Zeiss-Dunkelfeldkondensor wird die Probe von unten ausschließlich unter flachen Winkeln, entsprechend einem Aperturbereich von $NA = 1,2$ bis $1,4$, beleuchtet. Dieses Licht wird in Abwesenheit eines Streuers nicht vom Wasserobjektiv ($NA = 1,0$) aufgesammelt. Streulicht von einem Nanopartikeldimer fällt dagegen in das Objektiv. Die Probe befindet sich unter Wasser auf der Oberseite des als Substrat eingesetzten Mikroskop-Deckgläschens. Der optische Kontakt zwischen Dunkelfeldkondensor und Substrat wird mit Immersionsöl hergestellt. **(b) Abbildung und Spektroskopie.** Das Streulicht-Bild der Nanopartikeldimere kann durch das Okular des Mikroskops betrachtet werden. Zur Streuspektroskopie wird ein einziges Dimer auf den Eintrittspalt des Gitterspektrometers abgebildet. Am Spektrometerausgang wird dann mit einem ortsauflösenden Detektor das komplette Streuspektrum des Nanopartikelpaares gemessen. Mit einem Folienpolarisator kann eine bestimmte Polarisation ausgewählt werden. (a) und (b) adaptiert nach [158] und [47].

am Lampenausgang blockiert Lichtwellenlängen von mehr als 800 nm und verhindert so eine starke Erwärmung der Probe durch in diesem Aufbau ohnehin nicht detektierbares Infrarotlicht. Im Dunkelfeldkondensor, einem Zeiss Ultrakondensor, fokussieren Kugel- und Hohlspiegel das Licht auf die Probe und erzeugen einen hohlen Lichtkegel mit einer numerischen Apertur im Bereich $NA = 1,2$ bis $1,4$. Der optische Kontakt zu dem als Substrat dienenden Mikroskop-Deckgläschen wird mit Immersionsöl hergestellt.

Auf dem Deckgläschen befinden sich einzelne Nanopartikel und Nanopartikelaggregate. Einzelnen heißt hier, dass der Abstand deutlich größer als die Auflösung des Mikroskops ist, im allgemeinen beträgt er also einige Mikrometer.

Bei allen in dieser Arbeit gezeigten Messungen befindet sich die Probe unter Wasser. Der wichtigste Vorteil von Wasser mit $\varepsilon_A = 1,77$ gegenüber Luft als Umgebungsmedium besteht darin, dass die Plasmonresonanz zu Frequenzen unterhalb der Interbandkante verschoben wird, wodurch die Resonanzüberhöhung des Streuquerschnitts in Wasser wesentlich stärker ausgeprägt ist als in Luft. Des weiteren sorgt die wässrige Umgebung auch für einen effizienten Wärmeabtransport aus dem Fokus des Dunkelfeldkondensors, und es wird verhindert, dass etwa vorhandene Salze beim Trocknen der Probe auf dem Substrat auskristallisieren. Das Wasser wird mit einer per Pipettenspitze angeschlossenen Minipumpe umgewälzt [47], um zu vermeiden, dass im Wasser diffundierende Partikel die Messung beeinträchtigen.

Das Streulicht eines einzelnen Nanopartikeldimers wird mit dem Wasserobjektiv (Zeiss-

3.2 Mikroskopie einzelner Dimere

Achroplan, 100 \times , $NA = 1,0$) eines Zeiss-Axiotech-Mikroskops aufgesammelt. Das Mikroskop besitzt drei Ausgänge. Am ersten Ausgang befindet sich das Okular zur Betrachtung des Mikroskopbildes, am zweiten eine Digital-Fotokamera zur Aufzeichnung desselben, am dritten ein CCD-Mehrkanalspektrometer für die Streuspektroskopie. Zwei Spiegelstufen dienen dazu, einen dieser Ausgänge auszuwählen. In der ersten Stufe kann zur Justage statt des Spiegels auch ein 50:50-Strahlteiler verwendet werden, der es ermöglicht, das Okular gleichzeitig mit einem der beiden anderen Ausgänge zu nutzen.

Bei der eigentlichen Messung wird das gesamte aufgesammelte Licht auf den variablen Eintrittsspalt eines Czerny-Turner-Gitterspektrometers (Acton Research; Typ SpectraPro 300i) fokussiert. Das Spektrometer verfügt über einen motorisierten Gitterwechsler mit zwei verschiedenen Gittern (300 Rillen pro mm, Blaze-Wellenlänge 500 nm und 1200 Rillen pro mm, Blaze-Wellenlänge 750 nm) und einem Spiegel. Am Spektrometerausgang detektiert ein stickstoffgekühlter, rückseitig beleuchteter Full-Frame CCD-Chip (Princeton Instruments LN CCD-1340/400-EB/1) mit 400×1340 Pixeln das vom Gitter nach Wellenlängen aufgefächerte Streulicht. Bei der optimalen Betriebstemperatur von -110°C erreicht der Detektor zwischen 450 nm und 750 nm eine Quanteneffizienz von über 80 %, zu größeren Wellenlängen fällt die Quanteneffizienz auf ca. 50 % bei 870 nm und 10 % bei 1000 nm.

Ein elektromechanischer Verschluss schützt den CCD-Detektor zwischen den Messungen und während des Auslesevorganges vor Licht. Spektrometer und Kamera werden mit dem Computer-Programm WinSpec32 von Princeton Instruments gesteuert und ausgelesen. Das Programm erlaubt dabei, bekanntermaßen defekte CCD-Pixel und Zählereignisse durch kosmische Höhenstrahlung zu ignorieren.

Zur polarisationsabhängigen Streuspektroskopie wird das Streulichtbild eines einzigen Nanopartikeldimers durch manuelles Verfahren des Probenstisches in die Mitte des Mikroskop-Sichtfeldes bewegt. Dann wird das Bild vom Okular auf das Spektrometer umgeschaltet, welches sich zunächst noch in der Stellung nullter Ordnung befindet, so dass das Dimer auf die Mitte des CCD-Detektors abgebildet wird. Der variable Eingangsspalt des Spektrometers wird so schmal eingestellt, dass gerade noch das gesamte Bild des Dimers hindurchtritt. Dann wird das niedrigauflösende Spektrometergitter (300 Rillen pro mm, Blaze-Wellenlänge 500 nm) in die Messstellung mit Zentralwellenlänge 578,5 nm gefahren, so dass das gestreute Licht spektral aufgelöst auf den CCD-Chip abgebildet wird. Im Steuerungsprogramm werden sodann zwei Messbereiche definiert: einer, der gerade das gesamte Streulicht des Dimers enthält, und ein zweiter, gleich groß abseits des Dimers zur Messung des Hintergrundes. In jedem dieser Messbereiche wird die Auslesesoftware des CCD-Chips die registrierten Photonen senkrecht zur Richtung der spektralen Auflösung integrieren. Ein drehbarer Folienpolarisator mit Gradeinteilung wird in den Detektionsstrahlengang gesetzt und in die 0° -Stellung gedreht. In rascher Folge werden 19 Spektren – jeweils mit Hintergrund – aufgenommen, wobei nach jedem Spektrum der Polarisator um 10° weitergedreht wird. Die Integrationszeit für ein Einzelspektrum beträgt dabei in der Regel eine Sekunde.

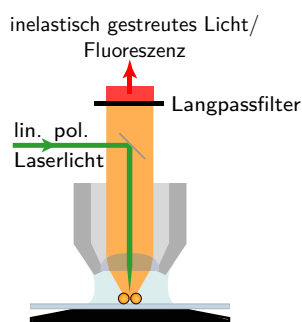


Abbildung 3.8: Fluoreszenz- und Ramanspektroskopie am Dunkelfeldmikroskop. Zur Raman- und Fluoreszenzspektroskopie wird ein monochromatischer Laserstrahl einstellbarer Polarisation über einen Strahlteiler in das Mikroskop eingekoppelt. Aus dem von der Probe aufgesammelten Licht wird mit einem Langpassfilter der elastisch gestreute Anteil eliminiert. Das Licht wird dann mit dem Aufbau aus Abb. 3.7b spektral aufgelöst und detektiert. Aufgrund der polarisierten Lichtquelle kann bei der Raman- und Fluoreszenzspektroskopie auf einen Polarisationsanalysator verzichtet werden.

Die Anregungsleistung der Lampe und die Aufsammeleffizienz des Detektionsaufbaus hängen von Polarisation und Wellenlänge ab. Für jede Polarisation werden daher nicht nur Streuspektrum des Dimers und Hintergrundspektrum, sondern zusätzlich an einer isotrop und über den sichtbaren Spektralbereich wellenlängenunabhängig streuenden Milchglasscheibe je ein Weißlichtspektrum gemessen. Die gemessenen Spektren werden falls nötig mit einem 21-Punkt Savitzky-Golay-Filter zweiter Ordnung [159] leicht geglättet, das Hintergrundspektrum wird von Streu- und Weißlichtspektrum abgezogen,¹ und schließlich wird durch das Weißlichtspektrum geteilt. Wenn die Spektren abhängig von der Lichtfrequenz oder der Photonenenergie statt der Wellenlänge dargestellt werden, wird auf den in Frequenzeinheiten variablen Bandpass des Spektrometers korrigiert [160, S. 52].

3.2.3 Raman- und Fluoreszenzspektroskopie an einzelnen Dimeren

Bei der im vergangenen Abschnitt vorgestellten elastischen Streuspektroskopie wird Licht detektiert, das ohne Energieverlust gestreut wird. Im Gegensatz dazu wird bei der Stokes-Ramanspektroskopie inelastisch gestreutes Licht aufgesammelt, das bei der Streuung Energie verloren hat. Bei der Fluoreszenzspektroskopie farbstoffbeladener Dimere erfolgt die Detektion ebenfalls rotverschoben zur Anregung.

Um Ramanspektren an den zuvor per elastischer Streuspektroskopie charakterisierten protein-verknüpften Dimeren zu messen, wird der Laserstrahl eines Helium-Neon-Lasers mit einem Bandpass (Semrock MaxLine, $\lambda_0 = 632,8 \text{ nm}$, $\Delta\lambda_{\text{FWHM}} = 2,4 \text{ nm}$) gefiltert und wie in Abb. 3.8 gezeigt über einen Strahlteiler in das Mikroskop eingekoppelt. Die lineare Polarisation des Laserstrahles kann mit Hilfe eines $\lambda/2$ -Verzögerungsplättchens gedreht werden. Der Detekti-

¹In der Praxis zeigen Hintergrund und Weißlicht meist einen identischen Wellenlängen- und Polarisationsabhängigkeit. Wenn dies der Fall ist, wird darauf verzichtet, das Hintergrundspektrum vom Weißlichtspektrum zu subtrahieren.

3.2 Mikroskopie einzelner Dimere

onsstrahlengang entspricht im wesentlichen dem bei der elastischen Streuung, jedoch wird ein steiler Kantenfilter (Semrock Razor Edge, $\lambda_0 = 641 \text{ nm}$, Übergangsbreite $< 156 \text{ cm}^{-1}$) eingesetzt, der das elastisch gestreute Licht blockiert und gleichzeitig das inelastisch gestreute Licht auch bei kleinen Ramanverschiebungen passieren lässt. Zur Auflösung der Ramanspektren wird im Monochromator das hochauflösende Gitter mit 1200 Rillen pro mm und Blaze-Wellenlänge 750 nm benutzt.

Der Aufbau erlaubt damit das Umschalten zwischen elastischer und inelastischer Streuspektroskopie innerhalb von ca. 30 s. Es können so in kurzer zeitlicher Folge elastische Streuspektren und Ramanspektren am gleichen proteinverknüpften Dimer gemessen werden.

Bei der Fluoreszenzspektroskopie farbstoffbeladener Dimere werden Laserquelle und Filter für eine Anregung bei 532 nm und das niedrigauflösende Spektrometergitter mit 300 Rillen pro mm verwendet. Ansonsten sind Aufbau und Vorgehensweise identisch mit Aufbau und Vorgehensweise bei der Ramanspektroskopie.

4 Herstellung von Protein-Ligand-verbundenen Nanopartikeldimeren

Als wesentliches Ergebnis dieser Arbeit wurde eine Methode entwickelt, mit der Aggregate von zwei oder drei Goldnanopartikeln schnell, einfach, relativ sortenrein und in für die optische Ensemble-Spektroskopie ausreichender Menge und Konzentration hergestellt werden können.

Als erfolgreichste Strategie erwies sich dabei, zur Verbindung der Nanopartikel Proteine zu benutzen, die hochspezifisch ein bestimmtes kleines Molekül, Ligand genannt, binden. Im folgenden wird exemplarisch die Herstellung der in Abb. 4.1 gezeigten Streptavidin-Biotin-verknüpften Nanopartikel für die ramanspektroskopischen Experimente dieser Arbeit dargestellt. Die für die Fluoreszenzmessungen verwendeten Dimere werden präpariert, indem Goldnanopartikel, die mit einem gegen Digoxigenin gerichteten Antikörper (Anti-Digoxigenin) funktionalisiert sind, mit mehrfach Digoxigenin-funktionalisiertem Rinderserumalbumin verknüpft werden. Das Verfahren ähnelt dem Streptavidin-Biotin-Verfahren stark und wird daher an dieser Stelle nicht gesondert behandelt.

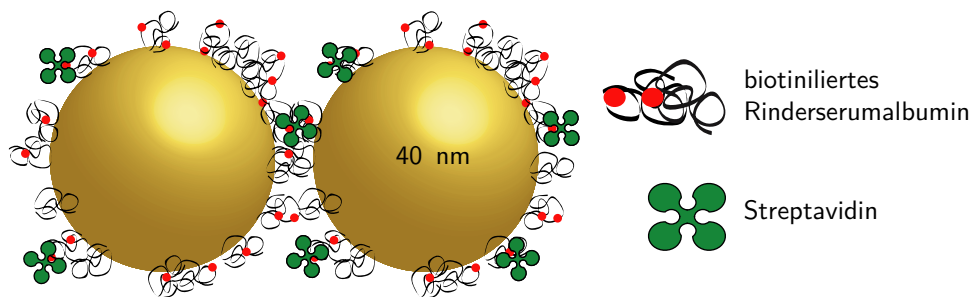


Abbildung 4.1: Biotin-Streptavidin-verknüpftes Nanopartikeldimer, Schema. Goldnanopartikel mit einem Durchmesser von 40 nm werden mit biotiniliertem Rinderserumalbumin funktionalisiert. Zwei solche Goldpartikel werden durch das Biotin-bindende Protein Streptavidin miteinander verknüpft. Die Brücke aus biotiniliertem Rinderserumalbumin und Streptavidin ist dabei nicht notwendigerweise gestreckt.

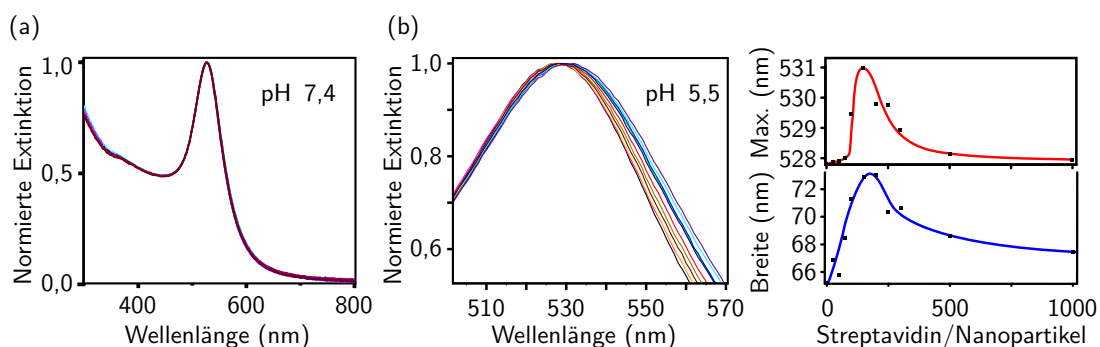


Abbildung 4.2: Extinktion von biotinierten Nanopartikeln nach Streptavidinzugabe. (a) Extinktion bei neutralem pH. Das Diagramm zeigt elf normierte Extinktionsspektren von Nanopartikelproben, bei denen zwischen 0 und 1000 Streptavidin pro Nanopartikel zugegeben worden sind. Es sind weder Rotverschiebung noch Verbreiterung sichtbar, die auf eine teilweise Aggregation hindeuten würden. **(b) Extinktion bei pH 5,5.** Der Ausschnitt aus den Extinktionsspektren im linken Graphen von (b) zeigt eine deutliche Verbreiterung und eine leichte Rotverschiebung der Resonanz; das jeweilige Ausmaß hängt von der Streptavidin-Konzentration ab. In den beiden rechten Graphen sind die Wellenlänge maximaler Extinktion (oben) und die volle Breite der Extinktionsresonanz bei dem 0,6-fachen des Extinktionsmaximums (unten) abhängig von der Streptavidinkonzentration aufgetragen (die Trendlinien sind frei eingezeichnet). Sowohl Rotverschiebung als auch Verbreiterung erreichen bei circa 150 Streptavidin/Goldnanopartikel ein Maximum.

4.1 Aggregation biotinierter Nanopartikel mit Streptavidin

Das Protein Streptavidin bindet, wie in Abschnitt 2.5 erläutert, mit hoher Affinität und Spezifität bis zu vier Biotin-Moleküle. Es kann also genutzt werden, um wie in Abb. 4.1 gezeigt Biotin-funktionalisierte Nanopartikel zu Aggregaten zu verknüpfen. Im Prinzip kann dabei ein Nanopartikel mit so vielen Nachbarn verbunden werden, wie es Biotingruppen besitzt, wenn dies sterisch möglich ist. Da diese Nachbarn wieder mit weiteren Nanopartikeln verbunden sein können, erwartet man, dass sich große Aggregate ausbilden, wenn mehr als ein Biotin pro Nanopartikel zur Verfügung steht. Tatsächlich wurden solche großen Streptavidin-vermittelten Aggregate bei biotinierten Nanopartikeln beobachtet, bei denen die Biotine über eine kurze Kohlenstoffkette direkt auf dem Nanopartikel verankert werden [161].

Betrachten wir nun die bei der vorliegenden Arbeit eingesetzten Nanopartikel, die mit biotiniertem Rinderserumalbumin funktionalisiert sind. Ein Nanopartikel mit 40 nm Durchmesser hat eine Oberfläche von 5000 nm^2 , und auf dieser finden konservativ gerechnet (vgl. Tabelle 2.2) 50 bis 100 Rinderserumalbuminmoleküle Platz. Geht man weiterhin davon aus, dass von den fünf pro Albumin angebotenen Biotinen nur eines für eine Bindung zur Verfügung steht, so erhält man immer noch die stattliche Zahl von ≥ 50 möglichen Streptavidin-Bindungsstellen pro Goldnanopartikel. Von daher würde man auch bei den über Rinderserumalbumin biotinierten Nanopartikeln erwarten, dass sich große Aggregate ausbilden, wenn man Streptavidin zugibt.

Tatsächlich lässt sich jedoch im Ensemble-Extinktionsspektrum keine Aggregation nachweisen, wenn man bei neutralem pH-Wert Streptavidin zu einer ein-nanomolaren Lösung dieser Nanopartikel hinzugibt (Abb. 4.2a). Bei pH 7,4 messen wir im Zetasizer ein Zetapotential von

4.1 Aggregation biotinierter Nanopartikel mit Streptavidin

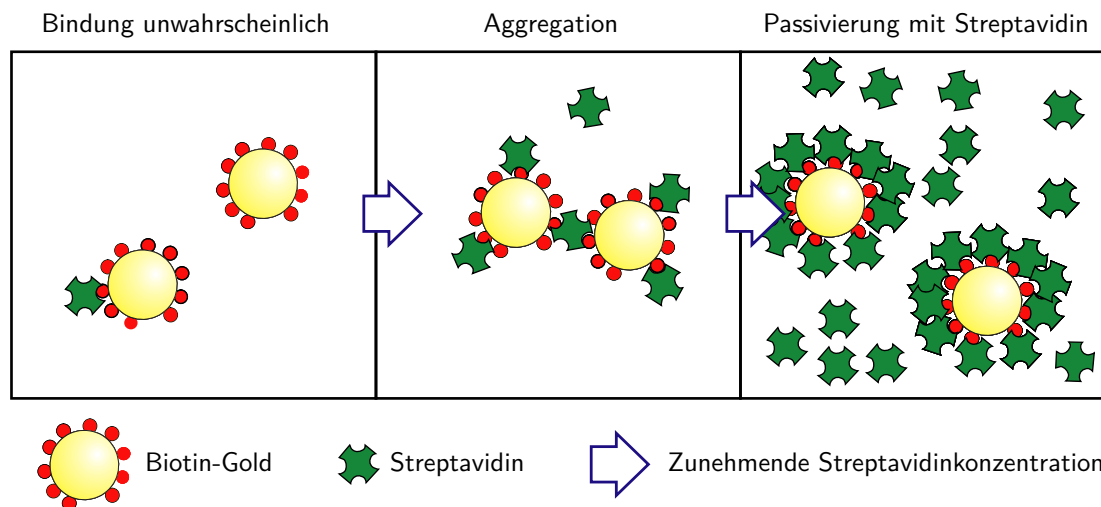


Abbildung 4.3: Modell der Streptavidin-vermittelten Aggregation biotinierter Nanopartikel. Ist die Anzahl der Streptavidin-Moleküle in Lösung kleiner als die der Goldnanopartikel oder vergleichbar (links) oder ist sie deutlich größer als die der Biotin-funktionalen Gruppen auf den Nanopartikeln (rechts), so ist Aggregation unwahrscheinlich. Nur wenn die Anzahl der Streptavidin-Moleküle in Lösung grob der Hälfte der funktionalen Biotine auf den Goldnanopartikeln entspricht (Mitte), können sich effizient Streptavidin-Biotin-verknüpften Nanopartikelaggregate bilden.

$\zeta = (-26,4 \pm 0,3) \text{ mV}$. Starke elektrostatischen Abstoßung verhindert also, dass die Nanopartikel einander nahe genug kommen, um eine aggregatbildende Bindung eingehen zu können. Das stark negative Zetapotential erklärt sich dadurch, dass das für die Oberflächenladung der Nanopartikel hauptsächlich verantwortliche Rinderserumalbumin einen isoelektrischen Punkt von $pI = 4,7$ hat (vgl. Tabelle 2.2) und die funktionalisierten Nanopartikel dementsprechend stark negativ geladen sind (vgl. Abb. 2.15). Damit ergibt sich die reizvolle Möglichkeit, das Ausmaß der Aggregation zu steuern, indem man das Zetapotential mit dem pH-Wert der Lösung einstellt.

Die Nanopartikel werden also in einem Citratpuffer¹ mit pH 5,5 verdünnt. Das Zetapotential steigt dann auf $\zeta = (-7,0 \pm 0,8) \text{ mV}$, verringert sich also betragsmäßig. Die kolloidale Lösung ist dennoch über lange Zeiträume stabil, solange kein Streptavidin zugegeben wird. Erst wenn Streptavidin zugegeben wird, lässt sich nach einstündiger Inkubation bei Raumtemperatur Aggregation nachweisen, indem man eine geringe, aber signifikante Verbreiterung und eine leichte Rotverschiebung der Extinktionsresonanz misst (Abb. 4.2b). Verglichen mit der in [161] beobachteten Änderung der Extinktionsspektren ist der Effekt klein, was darauf hindeutet, dass das Ausmaß der Aggregation eher gering bleibt. Die Aggregation nimmt bei geringer Streptavidinkonzentration rasch mit dieser zu, erreicht bei ca. 150fachen Streptavidin-Überschuss ein Maximum und sinkt dann wieder ab.

Dies lässt sich mithilfe des in Abb. 4.3 dargestellten Modells verstehen, in dem die Entstehung

¹Eine wässrige Lösung von 20 mM Trisnatriumcitrat und 50 mM NaCl wird mit 0,1 M HCl auf pH 5,5 titriert. Der pH-Wert wird dabei mit einer pH-Elektrode gemessen.

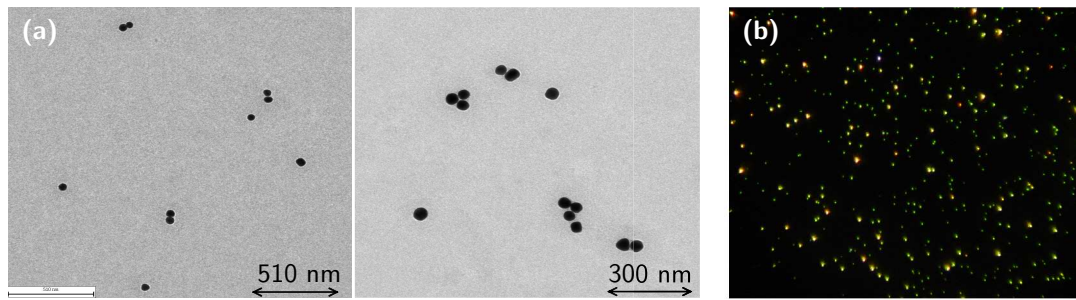


Abbildung 4.4: Elektronenmikroskopische und lichtmikroskopische Charakterisierung der nicht aufgereinigten Probe mit Streptavidin-Biotin-vermittelten Aggregaten. (a) Elektronenmikroskopie der verdünnten und eingetrockneten Probe zeigt, dass die Probe nahezu ausschließlich aus Einzelpartikeln, Dimeren und Drei-Partikel-Aggregaten besteht. Aggregate mit vier oder fünf Partikeln sind bereits sehr selten. **(b) Im Streulichtbild** des Dunkelfeldmikroskops lässt sich aufgrund des großen Gesichtsfeldes eine größere Zahl von Partikeln gleichzeitig beobachten. Im unpolarisierten Licht erscheinen Einzelpartikel grün und eher schwach leuchtend, Aggregate gelblich bis rot und heller. Circa 20 % der Streuer sind Aggregate. Eine Kontrollprobe ohne Streptavidin (nicht abgebildet) zeigt weder im Elektronen- noch im Lichtmikroskop Aggregation.

einer Biotin-Streptavidin-Biotin-Verknüpfung als zweistufiger Prozess begriffen wird: Zunächst kollidiert ein Streptavidin mit einem Nanopartikel und bindet daran, dann kollidiert das nun Streptavidin-funktionale Nanopartikel mit einem anderen Nanopartikel, wobei das Streptavidin dann auch ein Biotin des zweiten Nanopartikels bindet. Wenn die Anzahl der Streptavidin-Moleküle in Lösung kleiner als die der Goldnanopartikel oder ihr vergleichbar ist (links), wird nur ein geringer Teil der Oberfläche der Nanopartikel Streptavidin-aktiviert. Bei der Kollision zweier Nanopartikel ist daher die Ausbildung eines Streptavidin-vermittelten Dimers unwahrscheinlich. Wenn die Anzahl der Streptavidin-Moleküle in Lösung grob der Hälfte der funktionalen Biotine auf den Goldnanopartikeln entspricht (Mitte), so wird in etwa jede zweite Biotin-funktionale Gruppe auf den Nanopartikeln durch Bindung von Streptavidin in eine Streptavidin-funktionale Gruppe umgewandelt. Kollidieren zwei Nanopartikel, so ist es recht wahrscheinlich, dass eine Streptavidin-funktionale Gruppe des einen Nanopartikels auf eine Biotin-Gruppe des anderen trifft und sich eine Biotin-Streptavidin-Verknüpfung ausbildet. In diesem Konzentrationsbereich ist daher die Aggregation maximal. Wenn die Anzahl der Streptavidine in der Lösung die der funktionalen Biotingruppen deutlich übersteigt, so werden nach kurzer Zeit alle Biotin-funktionalen Gruppen auf den Nanopartikeln in Streptavidin-funktionale Gruppen umgewandelt. Da zwei Streptavidine nicht aneinander binden können, wird die Aggregation dadurch gestoppt.

Man erhält also aus dem Streptavidin/Nanopartikel-Verhältnis mit maximaler Aggregation, das wir aus den Extinktionsspektren in Abb. 4.2 zu $c_{Sa}/c_{NP} = 150$ bestimmen, einen groben Hinweis auf die Anzahl der pro Nanopartikel für eine Bindung zur Verfügung stehenden Biotine. Diese liegt demnach in der Größenordnung von ca. 300, was zum Beispiel mit einer Zahl von 100 Rinderserumalbumin-Molekülen pro Nanopartikel und ca. drei funktionalen Biotinen pro Albumin verträglich wäre.

Zur genaueren Analyse wird ein Teil der Probe mit $c_{Sa}/c_{NP} = 150$ verdünnt und auf einem

4.2 Isolierung der Dimere per Gelelektrophorese

TEM-Gitter eingetrocknet. Die Untersuchung mit dem Elektronenmikroskop bestätigt die auf der insgesamt geringen Änderung der Extinktionsspektren basierende Vermutung, dass lediglich kleine Aggregate gebildet werden (Abb. 4.4a): selbst bei $c_{\text{Sa}}/c_{\text{NP}} = 150$ liegt der Großteil der Partikel als Einzelpartikel vor, Dimere sind relativ häufig, Drei-Partikel-Aggregate sind noch recht leicht aufzufinden, größere Aggregate dagegen selten. Zur lichtmikroskopischen Untersuchung wird ein weiterer Teil der Probe verdünnt auf ein Deckgläschen aufgetrocknet, mehrfach gewaschen und schließlich unter Wasser im Dunkelfeldmikroskop fotografiert (Abb. 4.4b). Einzelpartikel zeigen sich im unpolarisierten Licht grün, Aggregate aufgrund der Rotverschiebung der transversalen Resonanz durch Plasmonkopplung gelblich bis rot. Die große Zahl der in einem einzelnen lichtmikroskopischen Bild sichtbaren Streuer erlaubt es, den Anteil der Aggregate an der Probe quantitativ zu bestimmen. Er liegt ohne Aufreinigung bei ca. 20 %. Im Prinzip würde dieser Anreicherungsgrad für die Einzeldimerspektroskopie ausreichen. Allerdings ist es für die Interpretation der spektroskopischen Daten wichtig, dass man weiß, um was für eine Art Aggregat es sich handelt. Da wir in dieser Arbeit nur Dimere untersuchen wollen, muss ausgeschlossen werden, dass sich ein nennenswerter Anteil größere Aggregate in der Probe befindet. Deshalb wird die Probe per Gelelektrophorese fraktioniert.

4.2 Isolierung der Dimere per Gelelektrophorese

Um die Dimere von einzelnen Nanopartikeln und größeren Aggregaten zu trennen, wird die in Abschnitt 3.1.3 vorgestellte Methode der Nanopartikel-Gelelektrophorese mit anschließender Elektroelution eingesetzt. Da für Gel und Bad ein TAE-Puffer mit pH 8,3 verwendet wird,¹ sind die Proteine auf den Nanopartikeln teilweise deprotoniert und somit negativ geladen. Daher wandern die Nanopartikel und die Aggregate von der Kathode zur Anode. Bei der Beladung hat die kolloidale Suspension eine Optische Dichte von $OD(1\text{ cm}) \approx 2$ am Extinktionsmaximum. Die Geltaschen sind etwa einen halben Zentimeter tief und je nach eingesetztem Kamm zwischen einem halben Zentimeter und drei Zentimeter breit. Die Gelstärke beträgt 1 % Agarose. Das Netzgerät wird in Spannungsbegrenzung bei 140 V betrieben. Bei einem Elektrodenabstand von 21,5 cm fließt anfänglich typischerweise ein Strom von 130 mA; während der Laufzeit der Elektrophorese von ca. 90 Minuten steigt die Stromstärke erwärmungsbedingt auf ungefähr 200 mA an. Die Nanopartikel wandern in dieser Zeit maximal 2,5 cm durch das Gel, die Probe trennt sich dabei wie in Abb. 4.5a rechts sichtbar in mehrere rote Banden, die von der vordersten zur hintersten weniger intensiv werden. Der Abstand zwischen den Banden nimmt dabei ab. Der Hauptteil der Partikel läuft in der ersten Bande, es folgt eine stets gut erkennbare zweite Bande, eine dritte Bande ist schwach ausgeprägt, gelegentlich lässt sich mit dem Auge sehr schwach eine vierte Bande wahrnehmen. Läuft die Elektrophorese deutlich länger als 90 Minuten, so verbreitern sich die einzelnen Banden so stark, dass sie bis auf die erste sehr undeutlich

¹Die Streptavidin-Biotin-Bindung hält die Aggregate trotz der nach dem pH-Wechsel größeren elektrostatischen Abstoßung zwischen den konstituierenden Nanopartikeln zusammen.

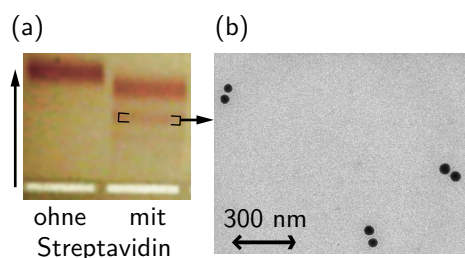


Abbildung 4.5: Isolierung der Dimere per Gelelektrophorese. (a) Digital-Farbfotografie des Elektrophorese-Gels auf dem Weißlichttisch nach 90 Minuten. Aufgrund von leichter Fehlfokussierung erscheinen die Banden etwas unschärfer, als sie tatsächlich sind. Links Kontrollprobe ohne Streptavidin; rechts Probe mit 150 Streptavidin pro biotiniertem Nanopartikel. Während die Kontrollprobe in einer einzigen Bande migriert, trennt sich die Probe mit den Aggregaten in mehrere Banden auf. (b) Die elektronenmikroskopische Aufnahme zeigt, dass die per Elektroelution aus der zweiten Bande herausgelösten Partikel größtenteils als Dimere vorliegen.

werden. Eine verbesserte Auftrennung wird daher nicht erreicht. Die Qualität des Elektrophorese-Ergebnisses hängt nur schwach von der Gelstärke (getestet: 0,8 %; 1,0 %; 1,5 % Agarose) und der Elektrodenspannung (getestet: 70 V, 100 V, 140 V) ab.

Aus der ersten und zweiten Bande können die Partikel per Elektroelution zurückgewonnen werden. Die ange deutete Box in Abb. 4.5a zeigt die Skalpell schnittkanten für die Elektroelution der zweiten Bande: rechter und linker Rand werden nicht verwendet, da die erste Bande insbesondere am Rand eine „Schleppe“ nach sich zieht. Elektronenmikroskopie der so gewonnenen Proben zeigt, dass die erste Bande aus Einzelpartikeln besteht und die zweite zu etwa zwei Dritteln aus Dimeren (Abb. 4.5b), wobei der Rest der aus ihr herausgelösten Partikel einzeln vorliegt.

Es liegt nahe zu vermuten, dass die dritte Bande und die vierte Bande aus Drei- bzw. Vier-Partikel-Aggregaten bestehen. In dieser Arbeit wurden optisch ausschließlich Dimere untersucht, da sie einerseits die wesentlich neue Eigenschaft von Aggregaten gegenüber Einzelpartikeln, nämlich die Plasmonkopplung zeigen, und andererseits ihre Einfachheit einen eindeutigen Rückschluss vom polarisationsabhängigen Streuspektrum auf die geometrischen Parameter Partikelabstand und Achsenorientierung ermöglicht. Bei Drei- und Vier-Partikel-Aggregaten ist die Zahl der geometrischen Freiheitsgrade zu groß, als dass sie zweifelsfrei aus den Streuspektren bestimmt werden könnten. Es wurde deshalb kein großer Aufwand getrieben, die Methode der Elektroelution so weit zu optimieren, dass auch aus den schwachen dritten und vierten Banden ausreichend konzentrierte Proben extrahiert werden können. Die Vermutung, dass diese aus Drei- bzw. Vier-Partikel-Aggregaten bestehen, harrt daher noch der elektronenmikroskopischen Bestätigung.

Im Vergleich mit der Kontrollprobe fällt in Abb. 4.5a auf, dass die Einzelpartikelbande langsamer wandert als die Bande der Kontrollprobe. Dies zeigt, dass auch an die Einzelpartikel Streptavidin gebunden hat, wodurch sich Radius und Gesamtladung und damit auch die elektrophoretische Mobilität ändern.

4.3 Elektronenmikroskopische Vermessung des Partikelabstands

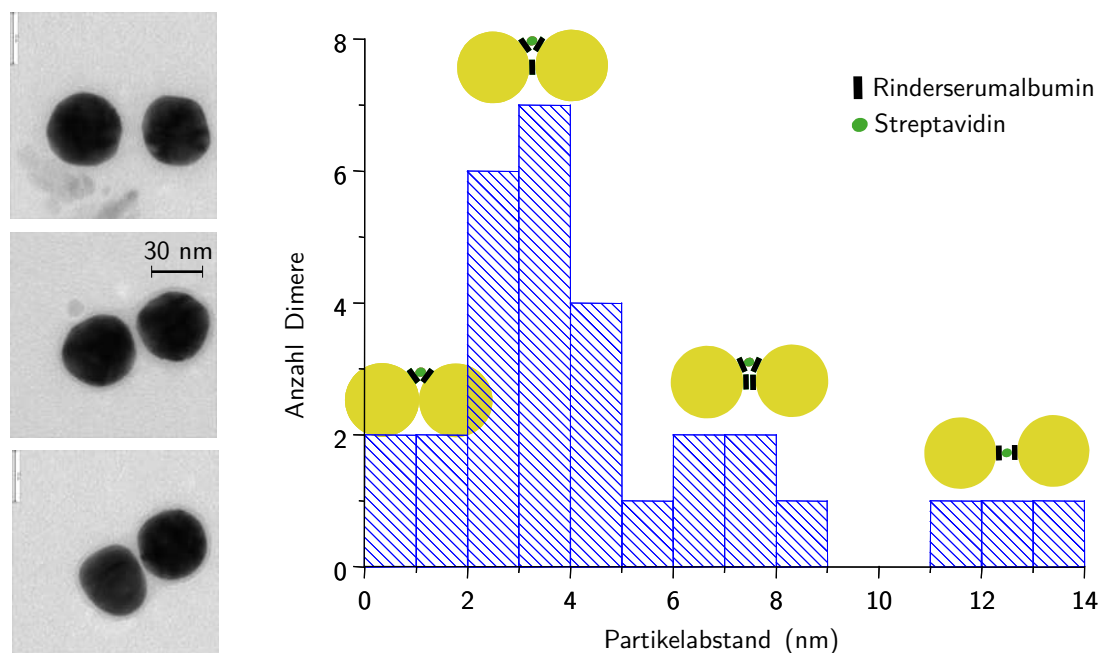


Abbildung 4.6: Mit dem Elektronenmikroskop gemessene Abstandsverteilung der Dimere. Links einzelne TEM-Aufnahmen, alle drei Bilder haben den gleichen Maßstab. Rechts Diagramm der gemessenen Abstände und entsprechende Protein-Geometrie zwischen den Partikeln. Die Zeichnungen sind maßstabsgetreu.

4.3 Elektronenmikroskopische Vermessung des Partikelabstands

Der entscheidende Parameter für Nahfeldresonatoren in Gestalt von Nanopartikeldimeren ist der Abstand zwischen den beiden konstituierenden Partikeln. Der Abstand entscheidet allein über die Plasmonkopplung und damit über Nah- und Fernfeld des Resonators (siehe Abschnitt 2.3). Deshalb kann mit Hilfe der Mie-Theorie der Abstand aus dem Streuspektrum des Dimers abgelesen werden, was bei den in Kapitel 6 und 7 beschriebenen Experimenten konsequent ausgenutzt wird. Zum Vergleich und zur Bestätigung haben wir unabhängig davon die auftretenden Partikelabstände mit dem Elektronenmikroskop gemessen.

Von 30 Partikelpaaren wurden stark vergrößerte TEM-Aufnahmen wie in Abb. 4.6 zu sehen angefertigt. Der Abstand wurde mittels eines selbst geschriebenen Programm-Moduls für das Bild-Analyse-Programm ImageJ [162] bestimmt. Genauer gesagt wurde der geringste Abstand zwischen den Rändern des zweidimensionalen Transmissionsbildes der Partikel ermittelt. Dieser kann leicht vom tatsächlichen minimalen Oberflächenabstand und vom Abstand entlang der Achse zwischen den Partikelzentren abweichen, wenn die Partikel nicht perfekt sphärisch sind. Die meisten Partikel haben eine hohe Sphärizität.

Es ergibt sich eine breite Abstandsverteilung mit Partikelabständen zwischen 0,5 nm und 14 nm. Den vermehrt auftretenden Abständen können verschiedene Anordnungen der Proteine

zwischen den Partikeln zugewiesen werden, wie durch die Zeichnungen in Abb. 4.6 angedeutet. Insbesondere stimmt der maximal auftretende Partikelabstand recht gut mit der Länge der gestreckten Konfiguration der RSA-Bi/Streptavidin/Bi-RSA-Verknüpfung überein, wenn das Rinderserumalbumin flach auf dem Partikel liegt (vgl. Tabelle 2.1 und Tabelle 2.2). Weiterhin fällt auf, dass die häufig auftretenden Abstände von weniger als 5 nm nicht ausreichen, um darin zwei intakte RSA-Moleküle unterzubringen. Das bedeutet, dass die Albumin-Hülle der Nanopartikel entweder bereits zu Anfang unvollständig ist oder dass die Albumine zwischen den Partikeln deformiert bzw. teilweise aus dem Partikelzwischenraum verdrängt werden. Dimere, bei denen sich die Nanopartikel direkt berühren, wurden jedoch nicht beobachtet.

5 Theorie der Raman- und Fluoreszenzverstärkung in Nanopartikelaggregaten

Die Feldüberhöhung zwischen den Nanopartikeln eines Dimers bei Anregung in der longitudinalen Mode führt dazu, dass Moleküle dort stärker an das anregende elektrische Feld koppeln. Gleichzeitig ändert der Nanopartikeldimer-Resonator die Vakuum-Modendichte, so dass sich die Wahrscheinlichkeit ändert, dass ein angeregtes Molekül im Resonator durch spontane Emission eines Photons relaxiert. Schließlich wirken die stark absorbierenden metallischen Nanopartikel als Senke für das elektromagnetische Feld des Moleküls. Diese drei Effekte – Anregungsverstärkung¹, Änderung der Wahrscheinlichkeiten strahlender Übergänge und Energietransfer – ändern Ramanstreuung und Photolumineszenz in der Umgebung eines Nanopartikel-Nahfeldresonators drastisch. Im folgenden werden wir die drei Effekte in der Nähe eines Aggregates aus beliebig vielen Nanopartikeln berechnen. Anschließend werden wir damit herleiten, wie sich Fluoreszenz- und Ramanintensitäten für ein reales Molekül in einem solchen Nanoaggregat ändern. Es handelt sich dabei um die erste vollständige analytische Beschreibung der Fluoreszenzverstärkung von Molekülen in einem Nanopartikelaggregat beliebiger Partikelzahl.

Als relevante Vorarbeiten sind insbesondere die theoretischen Veröffentlichungen von Hongxing Xu und Mikael Käll [163, 164] zur oberflächenverstärkten Ramanstreuung in Nanopartikeldimeren zu nennen, die wiederum auf Arbeiten von Chew und Kerker [165, 166] und von Inoue und Othaka [167] aufbauen. Die folgenden Ausführungen erweitern das Xu-Källsche Modell insofern, als zusätzlich zu Anregungsverstärkung und Emissionsverstärkung auch der Energietransfer berechnet wird, eine beliebige Partikelzahl zugelassen wird, die vibronische Substruktur des Grundzustands des Moleküls berücksichtigt wird, und explizite Formeln zur Berechnung der Verstärkungsfaktoren aus den Streukoeffizienten des Aggregates angegeben werden. Zur Berechnung dieser Verstärkungsfaktoren wurden die Computerprogramme GMM-FIELD und GMM-DIP entwickelt. Sie werden im Anhang dieser Arbeit besprochen.

¹Das Wort „Verstärkung“ soll hier und im folgenden auch eine Unterdrückung mit einschließen, die möglich ist, wenn das einfallende Feld und das von den Partikeln gestreute Feld außer Phase sind.

5.1 Anregungsverstärkung

Wir gehen wie erwähnt von monochromatischer Anregung aus. Die einfallende elektromagnetische Welle habe also die Frequenz ω_{exc} . Bei dieser Frequenz hat das Molekül ein bestimmtes Übergangsdipolmoment \mathbf{p} . Den Ort des Moleküls bezeichnen wir mit \mathbf{r}_0 .

Die Anregungsrate γ_{exc} des Moleküls ist proportional zum Betragsquadrat des Skalarprodukts von Übergangsdipolmoment und elektrischem Feld am Ort des Moleküls [168]:

$$\gamma_{\text{exc}} \propto |\mathbf{p} \cdot \mathbf{E}(\mathbf{r}_0)|^2 \quad (5.1.1)$$

Als Anregungsverstärkungsfaktor $g_{\text{exc}}(\omega_{\text{exc}})$ bezeichnen wir den Quotienten der Anregungsraten in Anwesenheit des Aggregates γ_{exc} und in dessen Abwesenheit $\gamma_{\text{exc}0}$ bei ansonsten gleichen Bedingungen:

$$g_{\text{exc}}(\omega_{\text{exc}}) = \frac{\gamma_{\text{exc}}}{\gamma_{\text{exc}0}} = \frac{|\mathbf{p} \cdot (\mathbf{E}_{\text{in}}(\mathbf{r}_0) + \mathbf{E}_{\text{str}}(\mathbf{r}_0))|^2}{|\mathbf{p} \cdot \mathbf{E}_{\text{in}}(\mathbf{r}_0)|^2} = \frac{|\hat{\mathbf{p}} \cdot (\mathbf{E}_{\text{in}} + \mathbf{E}_{\text{str}})|^2}{|\hat{\mathbf{p}} \cdot \mathbf{E}_{\text{in}}|^2} \quad (5.1.2)$$

Das Streufeld des Aggregates \mathbf{E}_{str} am Ort \mathbf{r}_0 und damit die Anregungsverstärkung können für eine beliebige einfallende Welle $(\mathbf{E}_{\text{in}}, \mathbf{H}_{\text{in}})$ mit Hilfe der Gleichungen (2.2.17) und (2.2.18) berechnet werden, sofern es gelingt, die einfallende Welle wie in Abschnitt 2.2.2 beschrieben bezüglich der sphärischen Vektorwellenfunktionen zu entwickeln.

Betrachten wir zum Beispiel ein Dimer, das entlang der x -Achse orientiert ist. In seiner Mitte befinde sich ein Molekül mit $\mathbf{p} \parallel \hat{\mathbf{e}}_x$. Fällt nun eine x -polarisierte ebene Welle ein, was der longitudinalen Mode des Dimers entspricht, so ist die Anregungsverstärkung durch das Quadrat der im unteren Teil von Abb. 2.10a aufgetragenen Feldverstärkung $\|\mathbf{E}_{\text{in}} + \mathbf{E}_{\text{str}}\| / \|\mathbf{E}_{\text{in}}\|$ gegeben.¹ Entsprechend ist die Anregungsverstärkung für die gleiche Geometrie in der transversalen Mode das Quadrat der in Abb. 2.10c gezeigten Feldverstärkung. Man sieht, dass es in der transversalen Mode für einige Anregungswellenlängen und Partikelabstände auch zu einer verringerten Anregung mit $g_{\text{exc}}(\omega_{\text{exc}}) < 1$ kommen kann.

5.2 Emission und Energietransfer für ein Zwei-Niveau-System

Wir werden nun für ein Zwei-Niveau-System die Verstärkung des strahlenden und des nichtstrahlenden Zerfalls des angeregten Zustandes in der Nähe eines Nanopartikelaggregates berechnen. Wir nutzen dazu die klassische Beschreibung des Zwei-Niveau-Systems als Hertzscher Dipol. Mithilfe der verallgemeinerten Mie-Theorie berechnen wir für einen solchen Dipol die ins Fernfeld abgestrahlte Leistung P_r und die von den Nanopartikeln absorbierte Leistung P_{abs} . Die Zerfallsraten des angeregten Zustands des Zwei-Niveau-Systems mit Übergangsfrequenz ω ,

¹In der Dimermitte ist $\mathbf{E}_{\text{in}} + \mathbf{E}_{\text{str}} \parallel \hat{\mathbf{e}}_x$ (vgl. Abb. 2.8, 2.9).

5.2 Emission und Energietransfer für ein Zwei-Niveau-System

dessen Übergangsdipol dem Dipolmoment \mathbf{p} des Oszillators entspricht, erhält man dann, indem man diese Leistungen durch die Energie eines einzelnen Licht-Quants teilt [82]. Die strahlende Zerfallsrate Γ_r , also die Rate der Photonenemission, ist gegeben durch $\Gamma_r = P_r/(\hbar\omega)$, und die zusätzliche nichtstrahlende Zerfallsrate, also die Rate des Energietransfers zu den Nanopartikeln, Γ_{ET} ist gegeben durch $\Gamma_{ET} = P_{abs}/(\hbar\omega)$.

5.2.1 Entwicklung des von einem oszillierenden Punktdipol emittierten Feldes in sphärischen Vektorwellenfunktionen

Um die abgestrahlten und absorbierten Leistungen, P_r und P_{abs} , für den oszillierenden Punktdipol mit dem Formalismus der Mie-Theorie zu berechnen, ist es notwendig, das Feld des Dipols in sphärischen Vektorwellenfunktionen zu entwickeln. Der Ausdruck für sein Feld lautet ([169, Kap. 8, Gl. 25] bzw. [170, Gl. 9.18]¹):

$$\mathbf{E}_{in} = E_0 \left[\left(\frac{1}{\rho^2} - \frac{i}{\rho} \right) \left(3(\hat{\mathbf{e}}_r \cdot \hat{\mathbf{p}}) \hat{\mathbf{e}}_r - \hat{\mathbf{p}} \right) - \hat{\mathbf{e}}_r \times (\hat{\mathbf{e}}_r \times \hat{\mathbf{p}}) \right] \frac{e^{i\rho}}{\rho} \quad (5.2.1a)$$

$$\mathbf{H}_{in} = i \sqrt{\frac{\epsilon_{\mathcal{A}} \epsilon_0}{\mu_{\mathcal{A}} \mu_0}} E_0 \left(\frac{1}{\rho} - i \right) (\hat{\mathbf{e}}_r \times \hat{\mathbf{p}}) \frac{e^{i\rho}}{\rho} \quad (5.2.1b)$$

mit $\hat{\mathbf{p}} = \mathbf{p}/\|\mathbf{p}\|$ sowie $\rho = k_{\mathcal{A}} r$ und $E_0 = \|\mathbf{p}\| k_{\mathcal{A}}^3 / (4\pi\epsilon_{\mathcal{A}}\epsilon_0)$. Wie zuvor haben wir die Zeitabhängigkeit $\exp(-i\omega t)$ unterdrückt. Dieses Feld wird nun zunächst in den Vektorwellenfunktionen N_{mn}^{30} und M_{mn}^{30} im Dipol-eigenen Koordinatensystem entwickelt. Aus Gl. (2.1.10) folgt

$$a_{mn}^0 = \frac{1}{iE_{mn}} \frac{\int_0^{\pi} \int_0^{2\pi} \langle N_{mn}^{30}, \mathbf{E}_{in} \rangle d\varphi d\theta}{\int_0^{\pi} \int_0^{2\pi} \langle N_{mn}^{30}, N_{mn}^{30} \rangle d\varphi d\theta} \quad \text{und} \quad b_{mn}^0 = \frac{1}{iE_{mn}} \frac{\int_0^{\pi} \int_0^{2\pi} \langle M_{mn}^{30}, \mathbf{E}_{in} \rangle d\varphi d\theta}{\int_0^{\pi} \int_0^{2\pi} \langle M_{mn}^{30}, M_{mn}^{30} \rangle d\varphi d\theta} \quad (5.2.2)$$

wobei \langle , \rangle für das Standardskalarprodukt in \mathbb{C}^3 steht. So erhalten wir die a_{mn}^0 und b_{mn}^0 für die ersten Ordnungen n :

$$a_{mn}^0 = i \delta_{n1} \left(\frac{\delta_{-1m}}{6} - \frac{\delta_{1m}}{3} \right), \quad b_{mn}^0 = 0. \quad (5.2.3)$$

Wenn man die so erhaltenen Koeffizienten in die Entwicklung Gl. (2.1.10) einsetzt, zeigt der Vergleich mit Gl. (5.2.1), dass die Entwicklung bereits vollständig ist. Aus a_{mn}^0 und b_{mn}^0 werden nun die von der jeweiligen Nanopartikel-Geometrie abhängigen Entwicklungskoeffizienten des Dipolfeldes $p_{mn}^{0\beta}$ und $q_{mn}^{0\beta}$ bezüglich der Vektorwellenfunktionen $M_{mn}^{1\beta}$ und $N_{mn}^{1\beta}$ für jedes Partikel β durch Vektortranslation gemäß Gl. (2.2.14) abgeleitet.

¹Achtung: Die Formeln im Jackson [170] sind nur im Vakuum korrekt; im Stratton [169] ist die Abhängigkeit $\exp(i\rho)$ in eine modifizierte Zeitabhängigkeit $\exp(-i\omega t^*)$ mit $\omega t^* = \omega t - \rho$ subsumiert.

5.2.2 Lösung der Maxwellgleichungen und Berechnung der abgestrahlten und absorbierten Leistungen

Damit können wir nun also die Maxwellgleichungen für das Dipolfeld durch Anwendung der verallgemeinerten Mie-Theorie lösen. Wir erhalten das gestreute Feld im Außenraum in Gestalt der Streukoeffizienten a_{mn}^β und b_{mn}^β als Lösung des Gleichungssystems Gl. (2.2.17). Aus diesen gilt es nun, die abgestrahlten und absorbierten Leistungen, P_r und P_{abs} , zu berechnen. Zuvor sei jedoch noch angemerkt, dass bei der beschriebenen Methode zur Lösung der Maxwellgleichungen die mögliche Anregung des Dipols durch sein eigenes von den Nanopartikeln gestreutes Feld vernachlässigt wird. Dieser Effekt wird allgemein als klein angesehen [166, 171]; wir verifizieren dies numerisch in Anhang C für ein einzelnes Partikel durch Vergleich mit dem Gersten-Nitzan-Modell [82], das eine mögliche Wiederanregung berücksichtigt. Bei realen Molekülen sorgt zudem die Stokesverschiebung dafür, dass zumindest die Anregung anderer Moleküle als desjenigen, das gerade emittiert hat und sich deshalb unter Umständen noch im vibronisch angeregten Zustand befindet, unwahrscheinlich ist.

Zurück zu dem Problem, die abgestrahlten und absorbierten Leistungen, P_r und P_{abs} , zu berechnen. Der Schlüssel zur Lösung dieses Problems liegt darin, den engen Zusammenhang zwischen den Wirkungsquerschnitten für Streuung und Extinktion und jenen Leistungen zu erkennen. Wir betrachten dazu noch einmal Gleichung (2.1.14) für die Wirkungsquerschnitte

$$\begin{aligned}\sigma_{\text{str}} &= \frac{1}{S_{\text{in}}} \int_{\partial K} \mathbf{S}_{\text{str}} \cdot \hat{\mathbf{e}}_r \, dA \\ \sigma_{\text{ext}} &= -\frac{1}{S_{\text{in}}} \int_{\partial K} \mathbf{S}_{\text{ext}} \cdot \hat{\mathbf{e}}_r \, dA \\ \sigma_{\text{abs}} &= \sigma_{\text{ext}} - \sigma_{\text{str}}\end{aligned}$$

mit $S_{\text{in}} = \frac{1}{2} \sqrt{\epsilon_{\mathcal{A}} \epsilon_0 / (\mu_{\mathcal{A}} \mu_0)} |E_0|^2$. Die Integrale in dieser Gleichung ergeben die Leistungen

$$P_{\text{str}} = \int_{\partial K} \mathbf{S}_{\text{str}} \cdot \hat{\mathbf{e}}_r \, dA \quad (5.2.5a)$$

$$P_{\text{ext}} = - \int_{\partial K} \mathbf{S}_{\text{ext}} \cdot \hat{\mathbf{e}}_r \, dA \quad (5.2.5b)$$

$$P_{\text{abs}} = P_{\text{ext}} - P_r \quad (5.2.5c)$$

Mit $E_0 = \|\mathbf{p}\| k_{\mathcal{A}}^3 / (4\pi \epsilon_{\mathcal{A}} \epsilon_0)$ erhalten wir daraus den Zusammenhang

$$\frac{P_{\text{str,ext}}}{P_0} = \frac{3}{2} \frac{\sigma_{\text{str,ext}}}{4\pi} k_{\mathcal{A}}^2 \quad (5.2.6)$$

Dabei ist P_0 die vom gleichen Dipol in Abwesenheit des Aggregates emittierte Leistung [169]

$$P_0 = \frac{1}{12\pi} \sqrt{\epsilon_{\mathcal{A}} \epsilon_0} (\mu_{\mathcal{A}} \mu_0)^{3/2} \|\mathbf{p}\|^2 \omega^4 \quad (5.2.7)$$

5.2 Emission und Energietransfer für ein Zwei-Niveau-System

Der Zusammenhang (5.2.6) ermöglicht uns, die von Yu-Lin Xu in [64] und [63] hergeleiteten analytischen Ausdrücke für die Streu- und Extinktionsquerschnitte zu nutzen, um die Leistung P_{abs} zu berechnen. Wir erhalten aus [64, Gl. 21] die gestreute Leistung P_{str} in Abhängigkeit von den Streukoeffizienten zu

$$\frac{P_{\text{str}}}{P_0} = \frac{3}{2} \sum_{\gamma, \beta=1}^N \sum_{\substack{m, n \\ \tilde{m}, \tilde{n}}} n(n+1)(2n+1) \frac{(n-m)!}{(n+m)!} \times \\ \Re \left(\left(a_{mn}^{\beta*} a_{\tilde{m}\tilde{n}}^{\gamma} + b_{mn}^{\beta*} b_{\tilde{m}\tilde{n}}^{\gamma} \right) \tilde{A}_{mn}^{\tilde{m}\tilde{n}}(\mathbf{r}_0^{\beta} - \mathbf{r}_0^{\gamma}) + \left(a_{mn}^{\beta*} b_{\tilde{m}\tilde{n}}^{\gamma} + b_{mn}^{\beta*} a_{\tilde{m}\tilde{n}}^{\gamma} \right) \tilde{B}_{mn}^{\tilde{m}\tilde{n}}(\mathbf{r}_0^{\beta} - \mathbf{r}_0^{\gamma}) \right) \quad (5.2.8)$$

wobei $\tilde{A}_{mn}^{\tilde{m}\tilde{n}}(\mathbf{r}_0^{\beta} - \mathbf{r}_0^{\gamma})$ und $\tilde{B}_{mn}^{\tilde{m}\tilde{n}}(\mathbf{r}_0^{\beta} - \mathbf{r}_0^{\gamma})$ Vektortranslationskoeffizienten analog zu (2.2.13) sind, die hier jedoch aus der Entwicklung der Vektorwellenfunktionen $M_{mn}^{3\gamma}$ und $N_{mn}^{3\gamma}$ (und nicht $M_{mn}^{1\gamma}$ und $N_{mn}^{1\gamma}$) bezüglich $M_{mn}^{3\beta}$ und $N_{mn}^{3\beta}$ hervorgehen.

Die Summe der absorbierten und der gestreuten Leistungen in Abhängigkeit von den Streukoeffizienten und den Entwicklungskoeffizienten des Dipolfeldes ergibt sich aus [63, Gl. 38] zu

$$\frac{P_{\text{ext}}}{P_0} = \frac{3}{2} \sum_{\beta=1}^N \sum_{n,m} n(n+1)(2n+1) \frac{(n-m)!}{(n+m)!} \Re \left(p_{mn}^{0\beta*} a_{mn}^{\beta} + q_{mn}^{0\beta*} b_{mn}^{\beta} \right) \quad (5.2.9)$$

Die absorbierte Leistung erhalten wir durch Einsetzen der Gleichungen (5.2.8) und (5.2.9) in

$$P_{\text{abs}} = P_{\text{ext}} - P_{\text{str}} \quad (5.2.10)$$

Somit fehlt uns nur noch die abgestrahlte Leistung P_r . Diese ist gegeben durch das Integral des Gesamt-Energieflusses durch eine Dipol und Aggregat einschließende Sphäre

$$P_r = - \int_{\partial K} \mathbf{S} \cdot \hat{\mathbf{e}}_r dA \quad (5.2.11)$$

Wir nutzen nun die Entwicklung des Dipolfeldes Gl. (5.2.3) bezüglich der sphärischen Vektorwellenfunktionen N_{mn}^{30} und M_{mn}^{30} . Damit können wir das gesamte abgestrahlte elektrische Feld schreiben als

$$\begin{aligned} \mathbf{E} &= \mathbf{E}_{\text{in}} + \mathbf{E}_{\text{str}} \\ &= i \sum_{n,m} E_{mn} \left(a_{mn}^0 N_{mn}^{30} + b_{mn}^0 M_{mn}^{30} \right) + \sum_{\beta=1}^N i \sum_{n,m} E_{mn} \left(a_{mn}^{\beta} N_{mn}^{3\beta} + b_{mn}^{\beta} M_{mn}^{3\beta} \right) \\ &= \sum_{\beta=0}^N i \sum_{n,m} E_{mn} \left(a_{mn}^{\beta} N_{mn}^{3\beta} + b_{mn}^{\beta} M_{mn}^{3\beta} \right) \end{aligned} \quad (5.2.12)$$

und analog das magnetische Feld. Formal können wir den Dipol also wie einen weiteren Streuer

behandeln. Damit ist aber klar, dass sich das Integral (5.2.11) über den Poynting-Vektor für das gesamte abgestrahlte Feld genauso berechnen lässt wie das Integral (5.2.5a) über den Poynting-Vektor für das Streufeld: nämlich mit Hilfe von Gleichung (5.2.8). Die abgestrahlte Leistung ist also gegeben durch

$$\frac{P_r}{P_0} = \frac{3}{2} \sum_{\gamma, \beta=0}^N \sum_{\substack{m, n \\ \tilde{m}, \tilde{n}}} n(n+1)(2n+1) \frac{(n-m)!}{(n+m)!} \times \\ \Re \left(\left(a_{mn}^{\beta*} a_{mn}^{\gamma} + b_{mn}^{\beta*} b_{mn}^{\gamma} \right) \tilde{A}_{mn}^{\tilde{m}\tilde{n}}(\mathbf{r}_0^{\beta} - \mathbf{r}_0^{\gamma}) + \left(a_{mn}^{\beta*} b_{mn}^{\gamma} + b_{mn}^{\beta*} a_{mn}^{\gamma} \right) \tilde{B}_{mn}^{\tilde{m}\tilde{n}}(\mathbf{r}_0^{\beta} - \mathbf{r}_0^{\gamma}) \right) \quad (5.2.13)$$

wobei hier β und γ im Unterschied zu Gleichung (5.2.8) von Null statt von Eins bis N laufen.

5.2.3 Zerfallsraten des angeregten Zustands eines Zwei-Niveau-Systems

Die Zerfallsraten des angeregten Zustands eines Zwei-Niveau-Systems mit Übergangsfrequenz ω , dessen Übergangsdipol dem Dipolmoment \mathbf{p} des bis hierher betrachteten oszillierenden Dipols entspricht, erhält man wie bereits erwähnt, indem man die im vorangegangenen Abschnitt berechneten Leistungen P_r und P_{abs} durch die Energie eines einzelnen Licht-Quants teilt [82]. Die strahlende Zerfallsrate Γ_r , also die Rate der Photonenemission, ist gegeben durch

$$\Gamma_r = P_r / (\hbar\omega) \quad (5.2.14a)$$

mit P_r aus Gleichung (5.2.13). Und die zusätzliche nichtstrahlende Zerfallsrate, also die Rate des Energietransfers zu den Nanopartikeln, Γ_{ET} ist gegeben durch

$$\Gamma_{\text{ET}} = P_{\text{abs}} / (\hbar\omega) \quad (5.2.14b)$$

mit P_{abs} aus den Gleichungen (5.2.10), (5.2.9) und (5.2.8).

5.3 Fluoreszenzverstärkung für ein reales Molekül

Bisher haben wir nur ein Zwei-Niveau-System beziehungsweise sein klassisches Analogon, einen oszillierenden Dipol, betrachtet. Jetzt möchten wir die Änderung der Fluoreszenz für ein reales Molekül berechnen, dessen elektronische Zustände eine vibronische Substruktur haben und dessen elektronische Konfiguration aufgrund von Wechselwirkungen mit seiner wässrigen Umgebung einer schnellen Fluktuation ausgesetzt ist, die zu einer quasihomogenen Verbreiterung der Linien des Fluoreszenzspektrums führt. Mit der Fluoreszenzverstärkung g bezeichnen wir die durch das Nanopartikel-Aggregat verursachte Änderung des Fluoreszenzspektrums F des

5.3 Fluoreszenzverstärkung für ein reales Molekül

Moleküls hinsichtlich Form und Intensität:

$$g(\omega_{\text{exc}}; \omega) := \frac{F(\omega_{\text{exc}}; \omega)}{F_0(\omega_{\text{exc}}; \omega)} \quad (5.3.1)$$

Dabei sind $F(\omega_{\text{exc}}; \omega)$ das (unnormierte) Fluoreszenzspektrum im Aggregat und F_0 das intrinsische Fluoreszenzspektrum, wenn mit einer ebenen Welle der Frequenz ω_{exc} und gegebener Intensität, Propagationsrichtung und Polarisation angeregt wird. Im linearen Bereich hängt g nicht von dem gewählten Wert der Anregungsintensität ab.

Die Fluoreszenzverstärkung g setzt sich aus zwei Anteilen zusammen, der Änderung der Anregungsrate $g_{\text{exc}}(\omega_{\text{exc}})$ und der Änderung der Emissionswahrscheinlichkeit $g_{\text{em}}(\omega)$. Da wie in Abschnitt 2.4.1 erläutert Absorption und Emission bei einem Molekül zwei inkohärente, unabhängig voneinander ablaufende Prozesse darstellen, ist die Gesamt-Fluoreszenzverstärkung das Produkt

$$g(\omega_{\text{exc}}; \omega) = g_{\text{exc}}(\omega_{\text{exc}}) g_{\text{em}}(\omega) \quad (5.3.2)$$

5.3.1 Anregungsverstärkung

Bei monochromatischer Anregung entspricht die Anregungsverstärkung für ein reales Molekül derjenigen für einen Dipol, und es gilt Gleichung (5.1.2)

$$g_{\text{exc}}(\omega_{\text{exc}}) = \frac{|\hat{\boldsymbol{p}} \cdot (\boldsymbol{E}_{\text{in}} + \boldsymbol{E}_{\text{str}})|^2}{|\hat{\boldsymbol{p}} \cdot \boldsymbol{E}_{\text{in}}|^2}$$

Dabei beschreibt der Einheitsvektor $\hat{\boldsymbol{p}}$ die räumliche Orientierung des molekularen Übergangsdipols. Das einfallende Feld $\boldsymbol{E}_{\text{in}}$ ist das einer ebenen Welle¹, und das vom Nanopartikel-Aggregat gestreute Feld $\boldsymbol{E}_{\text{str}}$ kann mithilfe der verallgemeinerten Mie-Theorie berechnet werden.

5.3.2 Emissionsverstärkung

Die Situation für die Emissionsverstärkung ist nicht ganz so einfach. Um die für den Hertzschen Dipol erhaltenen Ergebnisse übertragen zu können, müssen wir die Verteilung der Oszillatorstärke des Moleküls über sein gesamtes Emissionsspektrum in Betracht ziehen. Dies erfordert im ersten Schritt, die spektrale Abstrahlcharakteristik des Dipols zu eliminieren, indem wir die für den Dipol im Aggregat erhaltenen strahlenden und nichtstrahlenden Raten auf seine Abstrahlrate $\Gamma_0(\omega)$ ohne Aggregat normieren. Diese ist gegeben durch

$$\Gamma_0 = \frac{P_0}{\hbar\omega} \quad (5.3.3)$$

¹Im Prinzip kann natürlich auch jede andere einfallende Welle zugelassen werden. Aufgrund unserer Definition der Fluoreszenzverstärkung interessieren wir uns hier aber nur für Anregung mit einer ebenen Welle.

wobei P_0 wieder die vom Dipol ohne Aggregat abgestrahlte Leistung (5.2.7) ist. Damit erhalten wir dann aus den Gleichungen (5.2.14) den Purcellfaktor des Nanopartikelaggregats als Verstärkungsfaktor der strahlenden Rate $g_r(\omega)$ und den Energietransferfaktor $g_{ET}(\omega)$:

$$g_r(\omega) = \frac{\Gamma_r}{\Gamma_0} \quad (5.3.4a)$$

$$g_{ET}(\omega) = \frac{\Gamma_{ET}}{\Gamma_0} \quad (5.3.4b)$$

Im zweiten Schritt müssen wir nun das Emissionsspektrum des Farbstoffmoleküls berücksichtigen. Die spektrale Wahrscheinlichkeitsdichte $\Pi_0(\omega)$, dass das angeregte Farbstoffmolekül ein Photon einer bestimmten Frequenz ω emittiert, ist ohne Aggregat gegeben durch

$$\Pi_0(\omega) = \eta_0 f_0(\omega) = \frac{\gamma_{r0} f_0(\omega)}{\gamma_{r0} + \gamma_{nr0}} \quad (5.3.5)$$

Dabei sind η_0 die Quanteneffizienz, $f_0(\omega)$ das Integral-normierte Fluoreszenzspektrum, γ_{r0} die strahlende Rate und γ_{nr0} die nichtstrahlende Rate des Farbstoffmoleküls ohne Aggregat. Oberhalb des Bruchstriches steht hier die Rate des Zerfalls aufgrund von spontaner Emission eines Photons mit Frequenz ω ; unterhalb steht die gesamte Zerfallsrate des angeregten Zustands. Übertragen wir dies nun auf das Farbstoffmolekül im Aggregat, so ergibt sich als spektrale Wahrscheinlichkeitsdichte, dass das angeregte Farbstoffmolekül ein Photon der Frequenz ω emittiert, in der Nähe des Aggregates der Ausdruck

$$\Pi(\omega) = \frac{g_r(\omega) \gamma_{r0} f_0(\omega)}{\gamma_r + \gamma_{ET} + \gamma_{nr0}} \quad (5.3.6)$$

Die Raten γ_r und γ_{ET} sind dabei die *gesamte* strahlende Rate und die *gesamte* Energietransfer-rate des Moleküls im Aggregat. Wie sich diese berechnen, hängt davon ab, welchen Teil des Emissionsspektrums ein Molekül „sieht“, während es sich im angeregten Zustand befindet. Für den Extremfall, dass das Molekül nur sehr kurz im angeregten Zustand verbleibt, dürften hier nur die diskreten Frequenzen der vibronischen Progression berücksichtigt werden. Unter den Bedingungen der in dieser Arbeit beschriebenen Experimente, das heißt in einer flüssigen Umgebung und bei Raumtemperatur, muss jedoch davon ausgegangen werden, dass ein einzelnes Molekül auf einer Zeitskala, die deutlich kleiner ist als die Lebensdauer des angeregten Zustands, die gesamte elektronische Inhomogenität des Fluoreszenzspektrums „durchlebt“ [172]. Damit erhalten wir die gesamten Raten für strahlenden Zerfall und Energietransfer durch Integration über das gesamte Fluoreszenzspektrum

$$\gamma_r = \gamma_{r0} \int_0^\infty f_0(\omega) g_r(\omega) d\omega \quad (5.3.7a)$$

$$\gamma_{ET} = \gamma_{r0} \int_0^\infty f_0(\omega) g_{ET}(\omega) d\omega \quad (5.3.7b)$$

5.3 Fluoreszenzverstärkung für ein reales Molekül

Aus den Gleichungen (5.3.6) und (5.3.5) erhalten wir nun die gesuchte Emissionsverstärkung

$$g_{\text{em}}(\omega) = \frac{\Pi(\omega)}{\Pi_0(\omega)} = \frac{1}{\eta_0} \frac{g_r(\omega) \gamma_{r0}}{\gamma_r + \gamma_{\text{ET}} + \gamma_{\text{nr}0}} \quad (5.3.8)$$

Wie wir sehen, geht die Abhängigkeit der Fluoreszenzverstärkung von der Emissionsfrequenz ω einzig auf die spektrale Abhängigkeit des Verstärkungsfaktors $g_r(\omega)$ der strahlenden Rate zurück.

5.3.3 Gesamtverstärkung

Anregungsverstärkung und Emissionsverstärkung ergeben zusammen die Gesamtfluoreszenzverstärkung für ein reales Molekül. Denn nach Gleichung (5.3.2) ist

$$g(\omega_{\text{exc}}; \omega) = g_{\text{exc}}(\omega_{\text{exc}}) g_{\text{em}}(\omega)$$

wobei wir $g_{\text{exc}}(\omega_{\text{exc}})$ mit Gleichung (5.1.2) berechnen können und $g_{\text{em}}(\omega)$ mit den Gleichungen (5.3.8), (5.3.7), (5.3.4), und (5.2.14).

Wie können die Ergebnisse der hier entwickelten Theorie nun experimentell überprüft werden?

Zunächst wächst der im Fernfeld gemessene Absorptionsquerschnitt des Farbstoffes um den Faktor $g_{\text{exc}}(\omega_{\text{exc}})$. Dies dürfte allerdings in der Praxis schwierig zu beobachten sein, da die Absorption des Farbstoffes überlagert wird von der im allgemeinen deutlich stärkeren Plasmonabsorption.

Die Gesamt-Zerfallsrate des angeregten Zustands des Farbstoffes ändert sich gemäß

$$\gamma_{\text{ges}} = \gamma_r + \gamma_{\text{ET}} + \gamma_{\text{nr}0} \quad (5.3.9)$$

mit γ_r und γ_{ET} nach Gleichung (5.3.7). In der Regel wird γ_{ges} im Vergleich zur Situation ohne Aggregat zunehmen. Dies gilt aufgrund des Energietransfers selbst dann, wenn der strahlende Zerfall durch das Aggregat unterdrückt wird. Die Gesamt-Zerfallsrate ist eine durch zeitauflösende Spektroskopie experimentell direkt zugängliche Größe.¹ Für Fluoreszenz in der Nähe einzelner Partikel gibt es hierzu zahlreiche Arbeiten [13, 20–22, 79, 173, 174]. Im Zusammenhang mit dieser Dissertation wurden die Änderung der Raten bei verschiedenen Abständen zwischen Fluorophor und Nanopartikel [20] sowie die Änderung der Raten von langlebigen Phosphoreszenzfarbstoffen in der Nähe einzelner Nanopartikel [22] untersucht. Für Dimere sind im vergangenen Jahr zwei Studien erschienen [45, 46]. Es wurden jeweils deutlich erhöhte Zerfallsraten gemessen. In [45] wird unter der Annahme vernachlässigbarer Anregungsverstärkung versucht, die Beiträge der strahlenden und der nichtstrahlenden Rate zu identifizieren, indem Intensitätsinformationen ausgewertet werden. Zumindest in quantitativer

¹Im Falle vernachlässigbarer Anregungsverstärkung – zum Beispiel aufgrund von nichtresonanter Anregung – können aus den Transienten bei Berücksichtigung der Intensitätsinformation auch die Einzelraten bestimmt werden [13]. In Experimenten an wenigen Molekülen muss jedoch meist resonant angeregt werden, um ein messbares Signal zu erreichen, und $g_{\text{exc}}(\omega_{\text{exc}})$ kann nicht vernachlässigt werden. Oftmals ist $g_{\text{exc}}(\omega_{\text{exc}})$ hier sogar der dominante Faktor für die Änderung der Gesamtintensität [23, 24].

Hinsicht ist dies für die in [45] geschilderte experimentelle Situation jedoch durchaus fragwürdig. Denn erstens erscheint es unrealistisch, dass die Anregungsverstärkung im Vergleich zu der geringen aus den Daten berechneten Erhöhung der Quanteneffizienz von 40 % auf 53 % tatsächlich vernachlässigbar ist. Zweitens kann das der Analyse der Zerfallsdaten zugrundeliegende Modell mit nur zwei Lebensdauern (eine für „nah“, eine für „weit entfernt“ von der Nanoantenne) kaum als eine realistische Beschreibung der tatsächlichen Verhältnisse angesehen werden, sind die Farbstoffe im Experiment doch annähernd homogen über die gesamte Probe verteilt. Die Lebenszeiten von sehr nah an einem der Partikel befindlichen Farbstoffen können zudem vermutlich nicht aufgelöst werden. Die Zeitauflösung des Aufbaus wird in [45] nicht angegeben, scheint aber, wenn man die Anstiegszeit der Signale als Anhaltspunkt nimmt, durchaus in der Größenordnung der Lebensdauer der gemessenen schnellen Zerfallskomponente zu liegen. Drittens machen Effekte wie Photobleichen und lokale Inhomogenitäten den Vergleich von Intensitäten, die zu verschiedenen Zeiten oder an verschiedenen Orten einer mikroskopischen Probe gemessen sind, notorisch schwierig. Entsprechende statistische Daten fehlen in [45].

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden an Nanopartikeldimeren keine zeitaufauflösenden Fluoreszenzmessungen durchgeführt. Stattdessen konzentrieren sich die in Kapitel 6 beschriebenen Experimente auf die durch den Purcell-Effekt verursachte Änderung des Fluoreszenzspektrums in der Nähe eines Nanopartikeldimers. Im Gegensatz zu zeitaufgelösten Fluoreszenzdaten zeigt das Fluoreszenzspektrum die Änderung der Emission von Farbstoffmolekülen im Nanoresonator durch den Purcell-Effekt ohne Beimischung weiterer Effekte, so dass der Purcell-Effekt direkt beobachtet werden kann und nicht unter Zuhilfenahme aufwendig zu rechtfertigender Annahmen erst aus dem experimentellen Ergebnis herausgerechnet werden muss. Schreiben wir nämlich die frequenzabhängige Gesamtverstärkung $g(\omega_{\text{exc}}; \omega)$ ein wenig um

$$\begin{aligned} \frac{F(\omega)}{F_0(\omega)} &= g_{\text{exc}}(\omega_{\text{exc}}) g_{\text{em}}(\omega) \\ &= C(\omega_{\text{exc}}, \mathbf{r}^\beta, R_\beta, \dots) g_{\text{r}}(\omega) \end{aligned} \quad (5.3.10)$$

so erkennen wir, dass die Änderung der Form des Fluoreszenzspektrums genau die spektrale Abhängigkeit des Purcellfaktors $g_{\text{r}}(\omega)$ zeigt. Diese Änderung der Form des Fluoreszenzspektrums wurde in der vorliegenden Arbeit zum ersten Mal an einzelnen plasmonischen Nahfeldresonatoren gemessen. Die Ergebnisse werden in Kapitel 6 diskutiert.

Das komplementäre Experiment dazu vernachlässigt die Änderung des Spektrums und misst nur die integrierte Photonen-Emissionsrate, also die Anzahl insgesamt pro Zeiteinheit messbarer Photonen. Diese erhalten wir zu

$$\frac{F_{\text{ges}}}{F_{\text{ges}0}} = \frac{\int_0^\infty F(\omega) d\omega}{\int_0^\infty F_0(\omega) d\omega} = g_{\text{exc}}(\omega_{\text{exc}}) \int_0^\infty g_{\text{em}}(\omega) f_0(\omega) d\omega \quad (5.3.11)$$

Diese Gesamtzahl an emittierten Photonen lässt sich nur über die Anregungsverstärkung

5.4 Fluoreszenzverstärkung in mit dem Rasterkraftmikroskop zusammengesetzten Goldnanopartikeldimeren

$g_{\text{exc}}(\omega_{\text{exc}})$ deutlich steigern, denn

$$\int_0^\infty g_{\text{em}}(\omega) f_0(\omega) d\omega = \eta \eta_0^{-1} \quad (5.3.12)$$

ist genau die relative Änderung der Quanteneffizienz und damit auf η_0^{-1} beschränkt. Damit ist $\int_0^\infty g_{\text{em}}(\omega) f_0(\omega) d\omega$ für brauchbare Fluoreszenzfarbstoffe kleiner als etwa 10. In der Regel wird nicht einmal dieser Wert erreicht, da der Erhöhung der strahlenden Zerfallsrate eine zumindest vergleichbare Erhöhung der nichtstrahlenden Zerfallsrate Konkurrenz macht. Dagegen erreicht $g_{\text{exc}}(\omega_{\text{exc}})$ zum Beispiel für das zur schwarzen Kurve in Abb. 2.10a gehörige Dimer einen Maximalwert von nahezu 10 000. Eine Grenze wird hier erst dann erreicht, wenn der angeregte Zustand signifikant populiert wird.¹ Die Änderung der Gesamtzahl emittierter Photonen in der Nähe von einzelnen plasmonischen Nanopartikeln ist bereits umfangreich untersucht worden [13, 17, 20, 22, 23, 81, 175], ebenso die Änderung der Photonenausbeute in großen Aggregaten und rauen Metallfilmen [26–28, 176]. Versuche mit kleinen Aggregaten, insbesondere Dimeren, eine höhere Anzahl emittierter Photonen zu erreichen, haben erst in jüngster Vergangenheit begonnen [44–46]. Die experimentellen Ergebnisse der in unserer Gruppe durchgeführten Studie [44] wollen wir im folgenden kurz mit den von mir dazu durchgeführten Rechnungen nach dem hier erörterten Modell vergleichen.

5.4 Fluoreszenzverstärkung in mit dem Rasterkraftmikroskop zusammengesetzten Goldnanopartikeldimeren

Im in [44] veröffentlichten Experiment unserer Arbeitsgruppe wird die integrierte Fluoreszenzverstärkung in verschiedenen Geometrien aus ein und zwei Nanopartikeln mit je 60 nm Durchmesser gemessen. Als Sonde dient eine mit orange fluoreszierenden Farbstoffen beladene Polystyrolkugel von 40 nm Durchmesser. Goldnanopartikel und Farbstoffkugeln werden auf ein Deckglas aufgebracht. Die Probe wird wie in Abb. 5.1a gezeigt in einer Stickstoff-Atmosphäre auf dem piezoelektrisch verfahrbaren Probentisch eines Rasterkraftmikroskops fixiert, das auf ein invertiertes Epifluoreszenzmikroskop montiert ist. So kann die Probe von der Unterseite mit Laserlicht der Wellenlänge 532 nm beleuchtet und die angeregte Fluoreszenz beobachtet werden.

Im eigentlichen Experiment werden in einer Serie von Manipulationsschritten mit der Spitze des Rasterkraftmikroskops nacheinander schrittweise zwei Nanopartikel mit je 60 nm Durchmesser an eine Farbstoffkugel mit 40 nm angenähert, bis eine symmetrische Sandwichstruktur erreicht ist. Nach jedem Annäherungsschritt wird zum einen ein Höhenbild gemessen, indem die Probe unter der in vertikaler Richtung oszillierenden Spitze des Kraftmikroskops hin- und

¹ An dieser Stelle würde dann auch der beschleunigte strahlende und nichtstrahlende Zerfall wieder eine Rolle spielen, der für eine zügige Rückkehr in den Grundzustand und erneute Anregbarkeit sorgt.

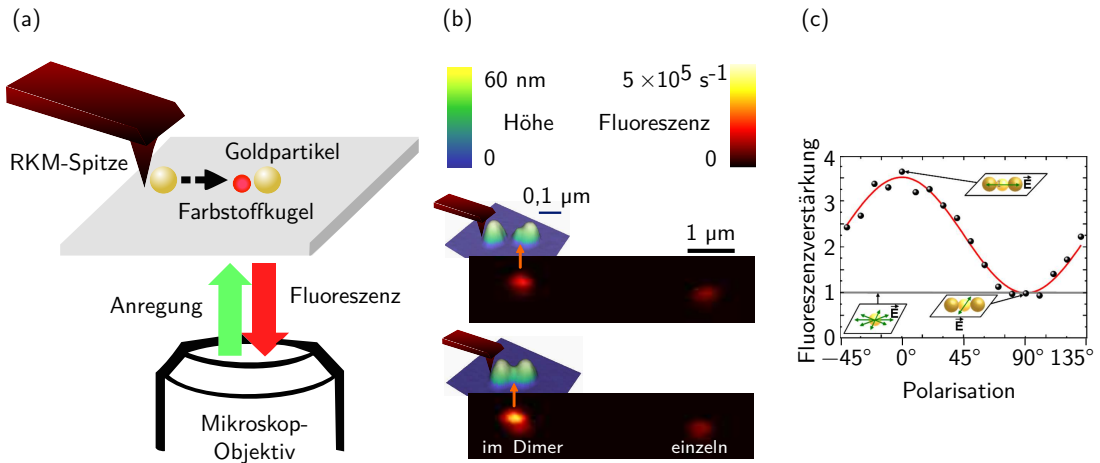


Abbildung 5.1: Polarisationsabhängige Fluoreszenzverstärkung im mit dem Rasterkraftmikroskop zusammen-gesetzten Nanopartikeldimer. Adaptiert nach [44]. (a) Schema des Experiments. (b) Höhen- und Fluoreszenzbilder der beiden letzten Annäherungsschritte. (c) Polarisationsabhängige Fluoreszenzverstärkung im symmetrischen Sandwich. Die Fluoreszenz einer einzelnen Farbstoffkugel ist als graue Linie eingezeichnet. Detaillierte Erklärung im Text.

herbewegt wird. Zum anderen wird ein Fluoreszenzbild aufgenommen, indem der Proben-tisch bei zurückgezogener Spitze des Kraftmikroskops und eingeschaltetem Anregungslaser verfahren wird und dabei die vom Mikroskop aufgesammelte Fluoreszenz zusammen mit der Probenposition aufgezeichnet wird. Abbildung 5.1b zeigt die beiden letzten Schritte im Aufbau der symmetrischen Sandwichstruktur. Das im Höhenbild rechte Goldnanopartikel ist zuvor bereits maximal an die Farbstoffkugel angenähert worden. Nun wird schrittweise ein zweites Nanopartikel herangeschoben, bis im unteren Doppelbild eine symmetrische Sandwichstruktur erreicht wird. Deutlich ist zu erkennen, wie während der Annäherung des zweiten Partikels die Fluoreszenz der Farbstoffkugel im Sandwich steigt, während die Fluoreszenz einer als Referenz dienenden einzelnen Farbstoffkugel weitgehend unverändert bleibt. Im finalen Annäherungsstadium befindet sich die Farbstoffkugel genau in der Mitte eines Goldnanopartikeldimers. Wird in dieser Geometrie die Polarisation des anregenden Laserstrahls gedreht, so ändert sich die gemessene Fluoreszenz aufgrund des Übergangs von der longitudinalen zur transversalen Mode des Dimers wie in Abb. 5.1c dargestellt. Die Polarisationsabhängigkeit zeigt genau die erwartete \cos^2 -Form (rote Kurve).

Wir möchten nun das in Abb. 5.1c dargestellte experimentelle Ergebnis mit den Vorhersagen der in diesem Kapitel entwickelten Theorie vergleichen. Da die Anregung resonant mit dem Dimerplasmon erfolgt, die Emission dagegen nicht,¹ erwarten wir, dass die Anregungsverstärkung der dominierende Beitrag zur Gesamtfluoreszenzverstärkung nach Gl. (5.3.11) ist. Um den Anregungsverstärkungsfaktor $g_{\text{exc}}(\omega_{\text{exc}})$ für die Farbstoffkugel zu berechnen, lösen wir zunächst das

¹In der longitudinalen Mode im maximal angenäherten Zustand – also in der Situation mit der größten Rotverschiebung – liegt das Maximum des Extinktionsquerschnitts bei 520 nm. Die Anregung erfolgt bei 532 nm, das Emissionsmaximum der Farbstoffe liegt bei 560 nm.

5.4 Fluoreszenzverstärkung in mit dem Rasterkraftmikroskop zusammengesetzten Goldnanopartikeldimeren

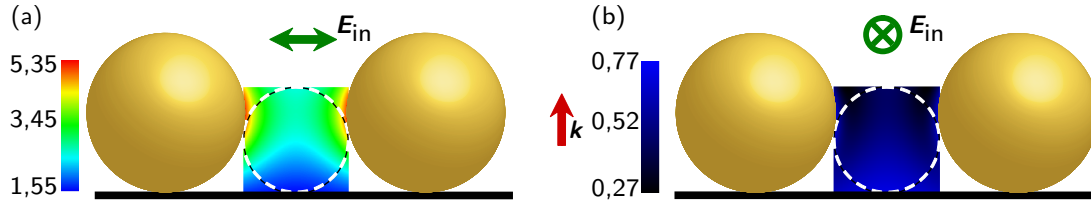


Abbildung 5.2: Feldverstärkung im Nanopartikel-Sandwich. Schnitt durch die von Wellenvektor k und Dimerachse aufgespannte Ebene. Die Position der Farbstoffkugel ist als gestrichelte Linie eingezeichnet. (a) Longitudinale Mode. (b) Transversale Mode.

Streuproblem für die beiden Goldpartikel. Der Laserstrahl wird dabei als ebene Welle idealisiert, der Brechungsindex der Umgebung unter Vernachlässigung von Glassubstrat und Polystyrol der Farbstoffkugel als Eins angenommen. Aus den Streukoeffizienten Gl. (2.2.17) berechnen wir für einen die Farbstoffkugel einschließenden Würfel das gestreute elektrische Feld $E_{\text{str}}(\mathbf{r})$ nach Gl. (2.2.18). Damit können wir nun die Anregungsverstärkung für jedes Farbstoffmolekül innerhalb der Polystyrolkugel nach Gl. (5.1.2) berechnen. Da wir von einer zufällig verteilten Orientierung $\hat{\mathbf{p}}$ der Farbstoffmoleküle ausgehen, müssen wir jeweils über den Winkel zwischen Feld und Farbstofforientierung mitteln

$$\begin{aligned}
 g_{\text{exc}}(\mathbf{r}) &= \frac{\langle |\hat{\mathbf{p}} \cdot (\mathbf{E}_{\text{in}}(\mathbf{r}) + \mathbf{E}_{\text{str}}(\mathbf{r}))|^2 \rangle}{\langle |\hat{\mathbf{p}} \cdot \mathbf{E}_{\text{in}}(\mathbf{r})|^2 \rangle} = \frac{\|\mathbf{E}_{\text{in}}(\mathbf{r}) + \mathbf{E}_{\text{str}}(\mathbf{r})\|^2 \langle \cos^2(\theta) \rangle}{\|\mathbf{E}_{\text{in}}(\mathbf{r})\|^2 \langle \cos^2(\theta) \rangle} \\
 &= \frac{\|\mathbf{E}_{\text{in}}(\mathbf{r}) + \mathbf{E}_{\text{str}}(\mathbf{r})\|^2}{\|\mathbf{E}_{\text{in}}(\mathbf{r})\|^2} = \|\hat{\mathbf{e}}_x e^{ikz} + \mathbf{E}_{\text{str}}(\mathbf{r})/E_0\|^2
 \end{aligned} \tag{5.4.1}$$

In Abbildung 5.2 ist die Feldverstärkung $\|\mathbf{E}_{\text{in}}(\mathbf{r}) + \mathbf{E}_{\text{str}}(\mathbf{r})\|/E_0$ in der von k und der Dimerachse aufgespannten Ebene dargestellt. Die gestrichelte Linie zeigt die Position der Farbstoffkugel. In der longitudinalen Mode sehen wir echte Feldverstärkung, in der transversalen Mode eine Abschwächung des Feldes. Der Maximalwert der Feldverstärkung in der longitudinalen Mode beträgt 5,35, der Minimalwert in der transversalen Mode beträgt 0,27.

Um eine effektive Anregungsverstärkung zu berechnen, mitteln wir nun die lokale Anregungsverstärkung $g_{\text{exc}}(\mathbf{r}) = (\|\mathbf{E}_{\text{in}}(\mathbf{r}) + \mathbf{E}_{\text{str}}(\mathbf{r})\|/E_0)^2$ über das gesamte Volumen der Farbstoffkugel. Wir erhalten für die longitudinale Mode eine mittlere Anregungsverstärkung g_{exc} von 6,86 und für die transversale Mode eine mittlere Anregungsverstärkung von 0,37. Die entsprechenden experimentellen Werte für die Gesamtfluoreszenzverstärkung $g = g_{\text{exc}} \eta/\eta_0$ betragen 3,64 und 1,0 (vgl. Abb. 5.1c). Für ein Farbstoffmolekül in der Mitte zwischen den Partikeln haben wir auch die Änderung der Quanteneffizienz η/η_0 berechnet.¹ Ist das Übergangsdipolmoment des Farbstoffmoleküls entlang der Dimerachse ausgerichtet, so werden strahlende und nichtstrahlende Rate erhöht ($\gamma_r/\gamma_{r0} = 8,5$, $\gamma_{\text{ET}}/\gamma_{r0} = 11$); die Quanteneffizienz sinkt auf 44 %. Diese Orientierung

¹Die Rechnung ist weitgehend analog zu der in Abschnitt 6.2 ausführlich beschriebenen Rechnung. Als intrinsische Quanteneffizienz haben wir nach [44] einen Wert von $\eta_0 \approx 1$ verwendet.

des Farbstoffmoleküls entspricht der Richtung des anregenden Feldes in der longitudinalen Mode. Für ein Farbstoffmolekül, dessen Übergangsdipolmoment senkrecht zur Dimerachse ausgerichtet ist, wird die strahlende Rate vermindert ($\gamma_r/\gamma_{r0} = 0,19$) und die nichtstrahlende Rate wird durch Energietransfer erhöht ($\gamma_{nr0}/\gamma_{r0} = 1,8$); die Quanteneffizienz sinkt auf 9,7 %. Diese Orientierung entspricht der Richtung des anregenden Feldes in der transversalen Mode. Das heißt, dass die Übereinstimmung zwischen berechneter und gemessener Gesamtverstärkung für die longitudinale Mode recht gut wird, wenn man die Änderung der Quanteneffizienz durch Purcell-Effekt und Energietransfer berücksichtigt. Für die transversale Mode ergibt sich allerdings eine recht große Diskrepanz.

Dass die Abschwächung der Fluoreszenz in der transversalen Mode im Experiment nicht gemessen werden konnte, ist vermutlich in erster Linie der Tatsache zuzuschreiben, dass das anregende Laserlicht nur unvollständig polarisiert war, und zwar nicht nur wegen der Imperfektionen des verwendeten Polarisators, sondern auch aufgrund der starken Fokussierung. Nehmen wir vereinfachend an, dass sämtliche gemessene Fluoreszenz auf die mit der Dimerachse parallele Feldkomponente des anregenden Lichts zurückgeht, so ergibt sich der im Experiment erreichte Polarisationsgrad zu 73 %.

5.5 Verstärkung der Ramanstreuung

Seit den für die nachfolgende Literatur richtungsweisenden Arbeiten von Kerker und Chew [165, 166] wird die Verstärkung der Ramanstreuung im wesentlichen genauso behandelt wie die Verstärkung der Fluoreszenz: sie wird aufgeteilt in eine „Anregungs“-Verstärkung, die durch die lokale Feldverstärkung gegeben ist, und eine Emissionsverstärkung, die durch den Purcellfaktor gegeben ist. Der einzige Unterschied besteht darin, dass bei der Ramanstreuung die intrinsische nichtstrahlende Zerfallsrate des angeregten Zustands und die Energietransferrate nicht wirksam werden, da die Emission instantan erfolgt.

Die elektromagnetische Ramanverstärkung einer Ramanlinie mit Ramanverschiebung $\Delta\omega$ ist also gegeben durch

$$g_{EM}(\omega_{exc}, \Delta\omega) = g_{exc}(\omega_{exc}) g_r(\omega_{exc} + \Delta\omega) \quad (5.5.1)$$

wobei in unserem Modell $g_{exc}(\omega_{exc})$ mit Hilfe von Gleichung (5.1.2) berechnet wird und $g_r(\omega_{exc} + \Delta\omega)$ nach den Gleichungen (5.3.4), (5.2.14) und (5.2.13). Der Verstärkungsfaktor der Emission $g_r(\omega_{exc} + \Delta\omega)$ muss dabei für die aus dem Ramantensor α_R der betrachteten Ramanlinie zu entnehmende Dipolorientierung

$$\hat{p} = \frac{\alpha_R(\mathbf{E}_{in} + \mathbf{E}_{str})}{\|\alpha_R(\mathbf{E}_{in} + \mathbf{E}_{str})\|} \quad (5.5.2)$$

berechnet werden.

5.5 Verstärkung der Ramanstreuung

Der Emissionsverstärkungsfaktor $g_r(\omega_{\text{exc}} + \Delta\omega)$ kann im Falle der Ramanstreuung natürlich nicht im Sinne einer Erhöhung der Zerfallsrate des angeregten Zustands interpretiert werden, da das Molekül bei der Ramanstreuung nicht wirklich angeregt wird. Wir erinnern uns deshalb daran, dass die durch den Faktor $g_r(\omega_{\text{exc}} + \Delta\omega)$ beschriebene Erhöhung der Fluoreszenzrate

$$\gamma_r^{if} = \frac{|\langle f|H_I|i\rangle|^2}{\hbar^2} \varrho(\omega/(2\pi)) \quad (5.5.3)$$

auf eine Änderung der Modendichte $\varrho(\omega/(2\pi))$ durch den Resonator bei der Emissionsfrequenz ω zurückzuführen ist. Die findet aber gleichermaßen Eingang in den quantenmechanischen Ausdruck für die Rate der Ramanstreuung nach Fermis Goldener Regel. Lediglich das Matrixelement ist ein anderes.

Damit haben wir in diesem Kapitel einen Formalismus entwickelt, der es uns erlaubt, Fluoreszenz- und Ramanverstärkung für reale Moleküle in Aggregaten beliebig vieler sphärischer Nanopartikel zu berechnen. Wir werden dieses Modell in den folgenden beiden Kapiteln einsetzen, um die experimentellen Ergebnisse dieser Arbeit zu interpretieren. Details zur Implementierung des Modells als FORTRAN-Programm finden sich im Anhang.

6 Purcell-Effekt in Nanopartikeldimer-Nahfeldresonatoren

Das in diesem Kapitel beschriebene Experiment zeigt eine Verformung der Emissionsspektren von Fluoreszenzfarbstoffen in Nahfeldresonatoren aus Nanopartikeldimeren. Durch Vergleich mit den Spektren der elastischen Lichtstreuung an den Dimeren wird gezeigt, dass es sich um einen Purcell-Effekt handelt: die Emission der Farbstoffe erfolgt bevorzugt bei der Resonanzfrequenz der longitudinalen Dimermode. Bestätigt wird dies durch Rechnungen im Rahmen des in Kapitel 5 vorgestellten Modells der Fluoreszenzverstärkung.

6.1 Experiment

Um den Effekt eines plasmonischen Resonators auf das Emissionsspektrum eines Farbstoffes eindeutig nachweisen zu können, ist es unbedingt notwendig, dass die Resonanzfrequenz über die gesamte Breite des Emissionsspektrums des Farbstoffes durchgestimmt werden kann. Mit einzelnen Nanopartikeln ist dies nur möglich, indem man die Form, Größe oder chemische Zusammensetzung der Partikel drastisch ändert [81, 177], was einerseits einen beträchtlichen Aufwand bedeutet und andererseits die Vergleichbarkeit der bei verschiedenen Resonanzfrequenzen erhaltenen Ergebnisse reduziert, da stets andere Parameter des Systems mitgeändert werden und die Messungen zu verschiedenen Resonanzfrequenzen nicht an ein- und derselben Probe durchgeführt werden können.

Die Resonanz von Dimeren kann dagegen wie in Kapitel 2 gezeigt auf einfache Weise über den Partikelabstand durchgestimmt werden. Gleichzeitig ist der zu erwartende Effekt aufgrund des elektromagnetischen Heißpunkts im Partikelzwischenraum wesentlich größer. Experimentelle Arbeiten zur Fluoreszenz in Nanopartikeldimer-Resonatoren haben in der jüngsten Vergangenheit begonnen [44–46, 178]. Ein eindeutiger Nachweis des Purcell-Effekts in Nanopartikeldimeren durch die Beobachtung eines verschobenen Emissionsspektrums stand allerdings bisher noch aus.

Wir nutzen zur Herstellung von Nanopartikeldimeren mit eingelagerten Farbstoffen die in Kapitel 4 vorgestellte Methode der Verknüpfung mittels Protein-Ligand-Wechselwirkung und anschließender Aufreinigung per Gelelektrophorese. Im Unterschied zu dem dort ausführlich erläuterten Biotin-Streptavidin-System setzen wir hier allerdings als Ankergruppe auf den Nanopartikeln Digoxigenin-Antikörper und als Bindeglied zwischen den Nanopartikeln digoxi-

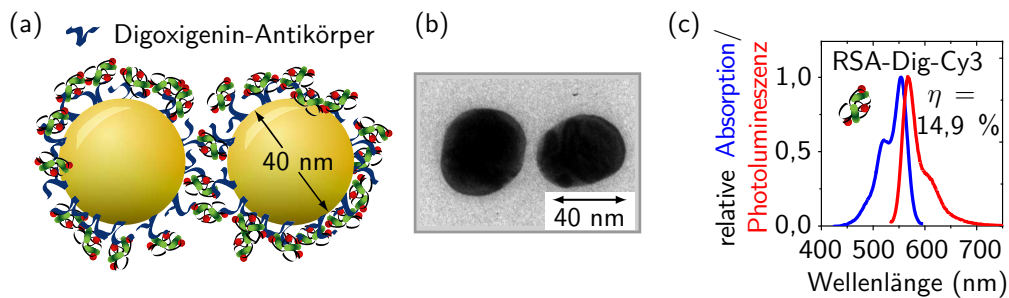


Abbildung 6.1: Dimerresonator und Fluoreszenzfarbstoff. (a) Nanopartikeldimer mit eingelagerten Fluorophoren, aus Antikörper-funktionalisierten Nanopartikeln hergestellt, indem Rinderserumalbumin mit mehreren Antigenen (Dig) und Cy3-Farbstoffmolekülen hinzugefügt wird. (b) Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahme eines Antikörper-Antigen-Dimers. (c) Absorptions- und Fluoreszenzspektren des Albumin-Digoxigenin-Cy3-Konjugates allein. Auf einem Rinderserumalbumin (RSA) befinden sich im Mittel 2,5 Digoxigeninmoleküle (Dig) und 2,5 Cy3-Farbstoffmoleküle.

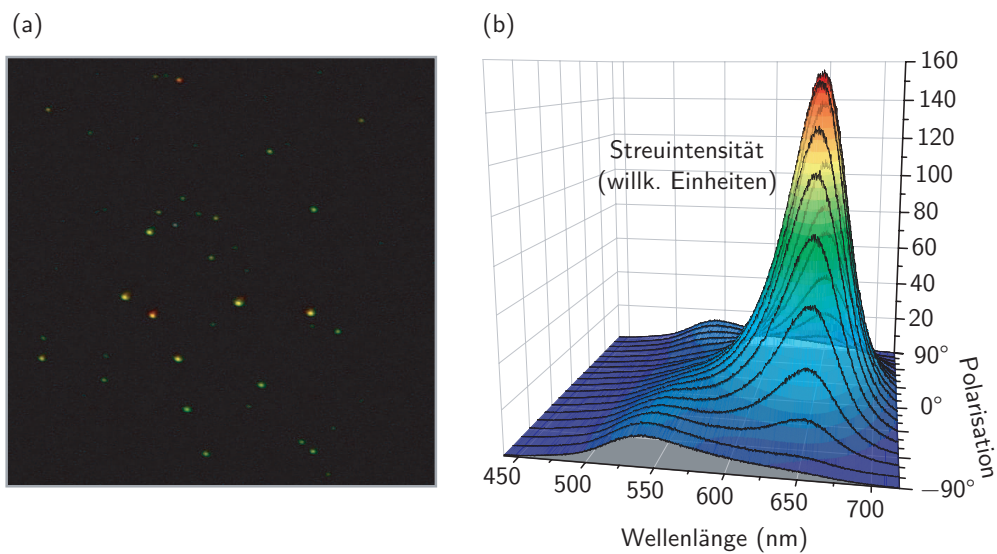


Abbildung 6.2: Elastische Lichtstreuung an Goldnanopartikeldimeren. (a) Dunkelfeld-Mikroskopbild der Weißlichtstreuung (Streptavidin-Biotin-Dimere). (b) Polarisationsabhängiges Streuspektrum eines einzelnen Antikörper-Antigen-Dimers. Deutlich sind die beiden Resonanzen der transversalen und der longitudinalen Mode zu erkennen.

6.1 Experiment

geniliertes Rinderserumalbumin ein. Der Farbstoff wird in das System eingebracht, indem das Rinderserumalbumin zusätzlich mit dem Fluoreszenzfarbstoff Indocarbocyanin(Cy3) markiert wird. Die Komponenten des Systems sowie Absorptions- und Fluoreszenzspektren von Cy3 auf digoxigeniliertem Rinderserumalbumin in Lösung sind in Abb. 6.1 dargestellt. Funktionalisierte Goldpartikel und doppeltfunktionalisiertes Rinderserumalbumin wurden von Roche Diagnostics, Penzberg, zur Verfügung gestellt. Die Messungen an den Antikörper-Antigen-verknüpften Dimeren sind überwiegend von meinem Diplomanden Alexander Schwemer durchgeführt worden.

Zur Untersuchung des Purcell-Effektes messen wir mit dem in Abschnitt 3.2 beschriebenen Aufbau an einzelnen farbstoffbeladenen Dimeren nacheinander die Spektren der elastischen Lichtstreuung und die Fluoreszenzspektren. Wenige Mikroliter einer mit Wasser verdünnten Lösung der per Elektrophorese aufgereinigten Dimere werden auf ein Deckglas der Dicke $(0,21 \pm 0,02)$ mm aufgetragen und eingetrocknet, anschließend wird das Deckglas mehrfach mit entionisiertem Wasser gewaschen. Die unter Wasser befindliche Probe wird dann bei unpolarisierter Weißlichtbeleuchtung durch das Okular des Mikroskops betrachtet. Die Nanopartikeldimere sind – wie in Abb. 6.2a zu sehen – als einzelne Beugungsscheibchen unterschiedlicher Farbe erkennbar. Die Farbe wird in unpolarisiertem Licht hauptsächlich von der longitudinalen Resonanz des Dimers bestimmt, da diese einen deutlich höheren Streuquerschnitt hat als die transversale (vgl. Abb. 2.5 und Abb. 6.2b). Die verschiedenen Farben sind also ein direkter Hinweis auf verschiedene Partikelabstände, die zu unterschiedlich starker Rotverschiebung des longitudinalen Plasmons führen.

Zunächst wird wie in Abschnitt 3.2.2 beschrieben ein Satz von 19 Spektren der elastischen Lichtstreuung gemessen, wobei nach jeder Messung der Polarisationsanalysator um 10° weitergedreht wird. Als erstes Ergebnis dieser Messung ermitteln wir die Lage der Dimerachse. Dazu werden die Streuspektren wie in Abb. 6.2b gegen den Analysatorwinkel aufgetragen, so dass der Polarisationswinkel abgelesen werden kann, bei dem die langwelligere der beiden auftretenden Resonanzen, also die longitudinale Resonanz, maximal wird. Aus dem Analysatorwinkel berechnen wir dann mit Hilfe einer zuvor bestimmten Kalibriergeraden die Stellung des $\lambda/2$ -Verzögerungsplättchens, die die Polarisation des zur Fluoreszenzanregung genutzten Laserstrahls parallel zur Dimerachse dreht. Nach der Einstellung der Anregungspolarisation messen wir ein Fluoreszenzspektrum der Farbstoffe im Dimer-Resonator wie in Abschnitt 3.2.3 beschrieben. Die Anregungswellenlänge von $\lambda_{\text{exc}} = 532$ nm ist resonant zur Absorption von Cy3, aber nicht zum Dimerplasmon. Die Intensität von $S_{\text{in}} = 0,6 \mu\text{W}/\mu\text{m}^2$ ist bewusst gering gehalten, um auch bei unter Umständen beträchtlicher lokaler Feldverstärkung sicher im linearen Regime zu sein. Die Zentralwellenlänge des Spektrometers wird auf 670 nm eingestellt, die Integrationszeit beträgt eine Minute.

Abbildung 6.3 zeigt die experimentellen Streu- und Fluoreszenzspektren von vier farbstoffbeladenen Nanopartikeldimeren. Die Spektren der elastischen Streuung in Abb. 6.3a zeigen für die vier gewählten Dimere Resonanzwellenlängen der longitudinalen Mode von 563 nm,

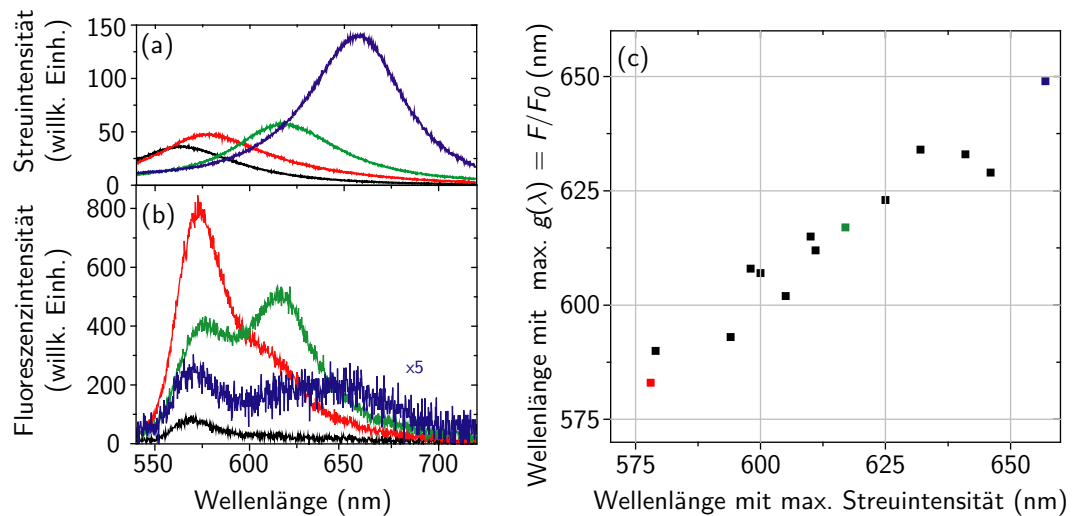


Abbildung 6.3: Fluoreszenz von Cy3 in per Streuspektroskopie charakterisierten Goldnanopartikeldimer-Resonatoren. Spektren mit gleichen Farben sind an den gleichen Dimeren gemessen. **(a) Streuspektren** der longitudinalen Resonanz einzelner Nanopartikelnahfeldresonatoren. Das blaue Spektrum entstammt dem in Abb. 6.2b gezeigten Datensatz. **(b) Fluoreszenzspektren** der gleichen Dimere. **(c) Korrelation** zwischen der Resonanzfrequenz der Nanopartikeldimere (Abszisse) und der Wellenlänge maximaler Fluoreszenzverstärkung (Ordinate).

578 nm, 617 nm und 657 nm. Das Dimer mit der kleinsten Resonanzwellenlänge ist dabei das mit dem größten Partikelabstand und der geringsten Kopplung zwischen den Plasmonen der beiden Partikel. Je kleiner der Abstand zwischen den Partikeln ist, desto stärker koppeln die Partikelplasmonen und desto größer wird die Rotverschiebung der longitudinalen Resonanz. Abbildung 6.3a zeigt damit eindrucksvoll die Durchstimmbarkeit der Dimer-Resonatoren.

Vergleichen wir nun die Fluoreszenzspektren in Abbildung 6.3b mit den Spektren der elastischen Lichtstreuung in Abb. 6.3a, so sehen wir deutlich, wie die eingebetteten Cy3-Farbstoffe gezwungen werden, bei der Resonanzfrequenz des Resonators zu emittieren, wodurch die Fluoreszenzspektren sich teilweise radikal von den Spektren des unbeeinflussten Farbstoffes unterscheiden. Die relativen Intensitäten der einzelnen vibronischen Subbanden werden drastisch geändert und teilweise sogar umgekehrt.

In Abb. 6.3c sehen wir die Korrelation zwischen den Wellenlängen maximaler Lichtstreuung der Nanopartikeldimere, die wir als im Fernfeld zugänglichen Messwert ihrer Resonanzfrequenzen betrachten können, einerseits, und den Wellenlängen maximaler Fluoreszenzverstärkung, die wir aus dem Vergleich der gemessenen Fluoreszenzspektren mit dem Emissionsspektrum aus Abb. 6.1c erhalten, andererseits. Neben den farbig eingezeichneten Messwerten aus den Kurven von Abb. 6.3a und b sind in diesem Diagramm an weiteren Dimeren erhaltene Ergebnisse eingetragen. Wie wir sehen, gibt es beinahe eine Eins-zu-Eins-Entsprechung zwischen der Resonanzwellenlänge der Dimere und der Wellenlänge maximaler Emissionsverstärkung. Wir wollen nun nachweisen, dass der Purcell-Effekt in den Nanoresonatoren die Ursache der

6.2 Modellrechnung

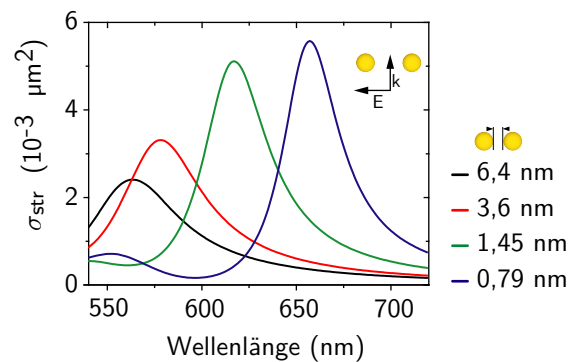


Abbildung 6.4: Berechnete Streuspektren zu den Nanopartikeldimeren aus Abb. 6.3. Der Partikelabstand ist jeweils so gewählt, dass das Streumaximum aus Abb. 6.3a reproduziert wird.

Verformung der Emissionsspektren ist, indem wir das im Experiment untersuchte System mit Hilfe der in Kapitel 5 entwickelten Theorie modellieren.

6.2 Modellrechnung

Die Nanopartikel werden als zwei Goldkugeln mit 40 nm Durchmesser in Wasser beschrieben. Die Rechnung folgt dem in Kapitel 5 beschriebenen Vorgehen. Alle Entwicklungen werden mindestens bis zur zwanzigsten Multipolordnung berechnet, die Auflösung der gezeigten Spektren beträgt 1 nm.

Als erstes gilt es, den Partikelabstand der Dimere zu ermitteln. Dazu werden die Wellenlängen maximaler Streuintensität aus den experimentellen Streuspektren der longitudinalen Mode abgelesen (vgl. Abb. 6.3a und c) und mit den Maxima der berechneten Streuquerschnitte für eine einfallende ebene Welle bei verschiedenen Abständen verglichen. Wir interpolieren zunächst die berechneten Punkte der Wellenlänge des maximalen Streuquerschnitts gegen den Partikelabstand aus Abb. 2.5b mit einem kubischen Spline [179, 180]. Aus der interpolierten Kurve lesen wir die Partikelabstände für die gemessenen Streumaxima ab. Für diese Abstände berechnen wir dann das Streuspektrum und bestimmen das Maximum des Streuquerschnitts. Das Verfahren wird iteriert, bis zwischen den gemessenen und den berechneten Streumaxima eine Abweichung von weniger als einem Zehntel Nanometer besteht. Für die vier Dimere aus Abb. 6.3a sind die berechneten Streuspektren und die Partikelabstände in Abb. 6.4 gezeigt.

Für alle untersuchten Dimere ergeben sich Oberflächenabstände der Partikel zwischen 0,79 nm und 6,4 nm in guter Übereinstimmung mit den elektronenmikroskopisch gemessenen Partikelabständen. Es ist anzunehmen, dass die berechneten Werte den tatsächlichen Partikelabstand leicht unterschätzen, da wir vernachlässigen, dass der Brechungsindex von Proteinschicht und Substrat mit $n = 1,5$ ungefähr 0,2 Einheiten über dem von Wasser liegt und damit bereits zu einer gewissen Rotverschiebung führt. Dem exakten Wert des Partikelabstands gilt hier allerdings auch

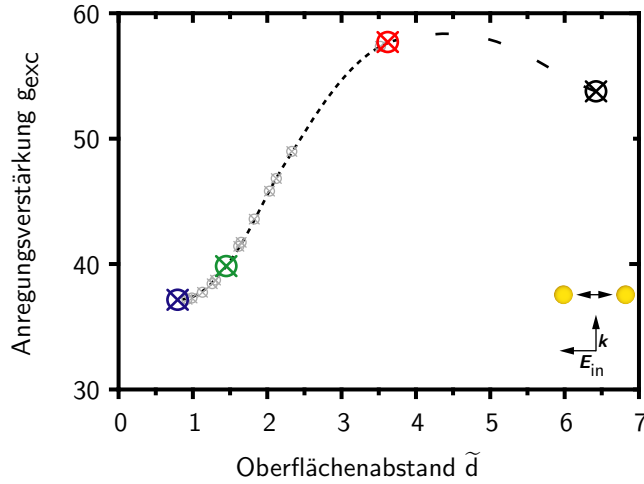


Abbildung 6.5: Anregungsverstärkung zu den Nanopartikeldimeren aus Abb. 6.3 für $\lambda_{exc} = 532 \text{ nm}$.

nicht unser Hauptinteresse, vielmehr geht es darum, Nah- und Fernfeld des Dimers möglichst akkurat zu modellieren. Dies dürfte trotz der Vernachlässigung von Proteinschicht und Substrat gegeben sein.

Mit den Partikelabständen verfügen wir nun über alle nötigen Informationen, um die Fluoreszenzverstärkung in den Dimerresonatoren zu berechnen. Für die Modellrechnung betrachten wir ein Farbstoffmolekül in der Mitte zwischen den beiden Partikeln mit Dipolorientierung parallel zur Dimerachse.

Als erstes berechnen wir die Anregungsverstärkung für dieses Molekül (vgl. Abschnitt 5.3.1). Wir beschreiben das anregende Laserlicht als ebene Welle mit Vakuum-Wellenlänge $\lambda_{exc} = 532 \text{ nm}$ und Polarisation entlang der Dimerachse. Die Anregungsverstärkung g_{exc} erhalten wir dann nach Berechnung des elektrischen Feldes am Ort des Moleküls aus Gleichung (5.1.2). Das Ergebnis ist für alle Dimere aus Abb. 6.3 dargestellt in Abbildung 6.5. Interessanterweise kommen in der Abhängigkeit der Anregungsverstärkung vom Partikelabstand zwei einander entgegenwirkende Einflüsse zum Tragen. Zum einen bewirkt die Rotverschiebung des gekoppelten Plasmons mit abnehmendem Abstand eine zunehmende Verstimmung des Plasmons gegen die gewählte Anregungswellenlänge, womit die Anregungsverstärkung bei abnehmendem Abstand kleiner wird. Dieser Faktor dominiert bei kleinen Abständen und ist die Ursache der Flanke im linken Teil von Abb. 6.5. Zum anderen wächst aber bei abnehmendem Abstand die maximale Feldverstärkung im Partikelzwischenraum (vgl. Abb. 2.10a). Dieser Trend überwiegt bei größeren Abständen, bei denen nur noch geringe Plasmonverschiebungen auftreten, und bewirkt das Ansteigen der Anregungsverstärkung zwischen $\tilde{d} = 6,4 \text{ nm}$ und $\tilde{d} = 3,6 \text{ nm}$. Insgesamt liegt die Anregungsverstärkung zwischen 30 und 60. Dies bestimmt auch die Größenordnung der Gesamtverstärkung der Fluoreszenz, da – wie wir sogleich sehen werden – die Emissionsverstärkung im spektralen Mittel größenordnungsmäßig Eins ist.

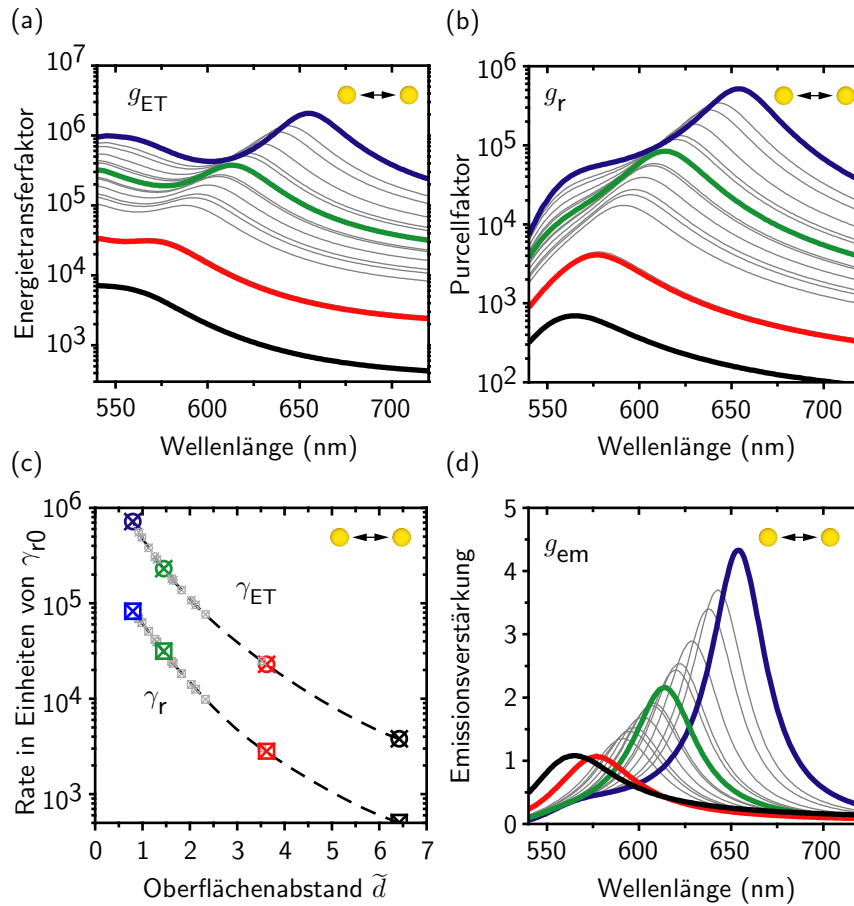


Abbildung 6.6: Wellenlängenabhängige Emissionsverstärkung zu den Nanopartikeldimeren aus Abb. 6.3. (a) Energietransferfaktor. (b) Purcellfaktor. (c) Zerfallsraten des angeregten Zustands aufgrund von Energie-transfer γ_{ET} und Photonenemission γ_r ; erhalten durch Mittelung von (a) beziehungsweise (b) über das Spektrum f_0 des Farbstoffes gemäß Gl. (5.3.7). (d) Emissionsverstärkung, berechnet gemäß Gl. (5.3.8) aus (b), (c) und der Quanteneffizienz $\eta_0 = 14,9\%$ des Farbstoffes. Die Emissionsverstärkung in (d) hat für jeden einzelnen Partikelabstand die gleiche spektrale Abhängigkeit wie der Purcellfaktor in (b), man beachte beim Vergleich die semilogarithmische Auftragung in (b).

Nach der Anregungsverstärkung wenden wir uns nun der wellenlängenabhängigen Emissionsverstärkung zu. Deren Berechnung nach Gleichung (5.3.8) erfordert die vorhergehende Bestimmung des Purcellfaktors $g_r(\omega)$ und des Energietransferfaktors $g_{ET}(\omega)$. Wir berechnen beide mit der verallgemeinerten Mie-Theorie wie in Kapitel 5 beschrieben.

Die jeweiligen Ergebnisse sind im oberen Teil von Abbildung 6.6 gegen die Wellenlänge aufgetragen. Purcellfaktor und Energietransferfaktor zeigen wie erwartet ein Maximum bei der Wellenlänge des gekoppelten Plasmons, also bei der Resonanzwellenlänge des Dimerresonators. Der Energietransferfaktor zeigt darüber hinaus für alle Abstände große Werte auch bei der Wellenlänge des Einzelpartikelplasmons.

Aus Energietransferfaktor bzw. Purcellfaktor und dem Spektrum f_0 des Farbstoffes ohne Aggregat berechnen wir nun die entsprechenden Zerfallsraten des angeregten Zustands mit Hilfe von Gl. (5.3.7):

$$\gamma_r/\gamma_{r0} = \int_0^\infty f_0(\lambda) g_r(2\pi c/\lambda) d\lambda, \quad \gamma_{ET}/\gamma_{r0} = \int_0^\infty f_0(\lambda) g_{ET}(2\pi c/\lambda) d\lambda$$

Dabei ist $f_0(\lambda) := 2\pi c \lambda^{-2} f_0(\omega(\lambda))$ das integralnormierte wellenlängenabhängige Fluoreszenzspektrum, wie es mit einem Gitterspektrometer gemessen wird. In Abbildung 6.6c sind Energietransferrate und strahlende Rate gegen den Partikelabstand aufgetragen. Beide Raten sind bis hinauf zu den größten gemessenen Abständen beträchtlich erhöht und dominieren gemeinsam die Dynamik des Zerfalls. Für alle Abstände bewegt sich die Energietransferrate zwischen dem Sieben- und dem Achtfachen der strahlenden Rate. Damit beläuft sich die Quanteneffizienz η auf etwa vier Fünftel der intrinsischen Quanteneffizienz von 14,9 %. Eine echte globale Emissionsverstärkung im Sinne einer erhöhten Quanteneffizienz gibt es also in unserem Experiment nicht.

Der resonante Teil der Farbstoffemission wird dagegen durchaus deutlich verstärkt. Dies zeigt sich an dem nach Gleichung (5.3.8)

$$g_{em}(\lambda) = \frac{1}{\eta_0} \frac{g_r(\lambda)}{\gamma_r/\gamma_{r0} + \gamma_{ET}/\gamma_{r0} + (\eta_0^{-1} - 1)}$$

berechneten wellenlängenabhängigen Emissionsverstärkungsfaktor g_{em} , der in Teil (d) von Abbildung 6.6 dargestellt ist. Für alle Dimerresonatoren ist die Emission bei der Resonanzfrequenz echt erhöht, also $g_{em} > 1$. Die maximale Erhöhung steigt – wie erwartet – bei kleiner werdenden Abständen zwischen den Partikeln und erreicht bei dem kleinsten beobachteten Abstand von $\tilde{d} = 0,79$ nm einen Wert von 4,29. Nichtresonante Teile des Emissionsspektrums werden dagegen deutlich unterdrückt ($g_{em} < 1$), was hier im Gegensatz zur Situation in Mikroresonatoren jedoch auf den Energietransfer und nicht auf einen Purcellfaktor kleiner als Eins zurückzuführen ist. Da der Bereich der Unterdrückung den Großteil des intrinsischen Emissionsspektrums des Farbstoffes einschließt, kommt es zur Absenkung der Quanteneffizienz.

Mit der Anregungsverstärkung g_{exc} aus Abb. 6.5, der Emissionsverstärkung $g_{em}(\lambda)$ aus

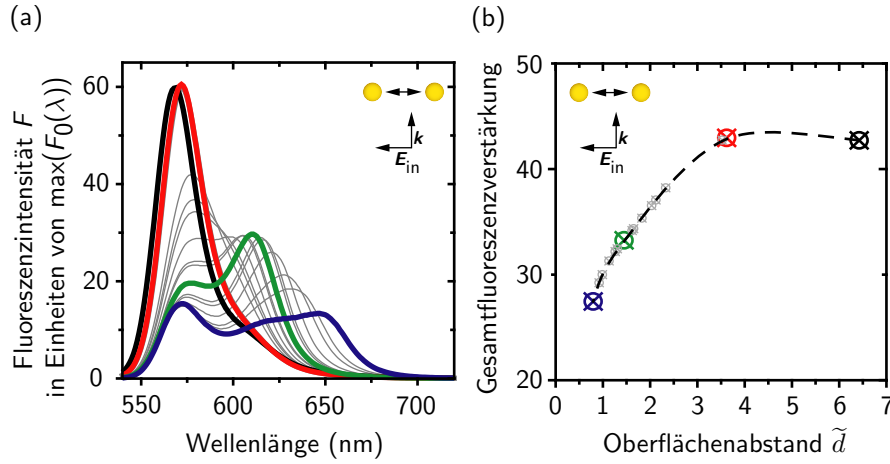


Abbildung 6.7: Theoretisches Fluoreszenzspektrum für Cy3 in den Nanopartikeldimeren aus Abb. 6.3.

(a) Fluoreszenzspektren. Die Emissionsspektren werden durch den Purcell-Effekt (vgl. Abb. 6.6b) stark verformt.
(b) Gesamtfluoreszenzverstärkung. Die Gesamtfluoreszenzverstärkung geht in erster Linie auf die Anregungsverstärkung (Abb. 6.5) zurück.

Abb. 6.6d und dem intrinsischen Fluoreszenzspektrum F_0 aus Abb. 6.1c können wir nun das durch die Anregungsverstärkung überhöhte und durch den Purcell-Effekt verformte Fluoreszenzspektrum $F(\lambda)$ berechnen:

$$F(\lambda) = g_{\text{exc}} g_{\text{em}}(\lambda) F_0(\lambda) \quad (6.2.1)$$

Wir erhalten damit das Hauptresultat der Modellrechnung: die in Abb. 6.7a abgebildeten theoretischen Spektren für Cy3 in unseren Nanopartikeldimer-Nahfeldresonatoren. Die verstärkten Fluoreszenzspektren F sind hier in Einheiten der Maximalamplitude des unverstärkten Fluoreszenzspektrums F_0 aufgetragen. Dadurch lässt sich beispielsweise für das rot eingezeichnete Spektrum des Dimers mit $\tilde{d} = 3,6$ nm direkt eine Erhöhung der Maximalamplitude um den Faktor 60,5 ablesen.

Am auffälligsten an den erhaltenen Spektren ist sicherlich ihre starke Verformung gegenüber dem intrinsischen Spektrum des Farbstoffes. Diese Verformung geht in unserem Modell ausschließlich auf den Purcell-Effekt, nämlich auf den Faktor $g_r(\lambda)$ in der Emissionsverstärkung $g_{\text{em}}(\lambda)$ zurück. Anregungsverstärkung und Energietransfer beeinflussen nur die globale Amplitude des Spektrums, nicht aber seine Form. Wir werden die Verformung der Spektren im nächsten Abschnitt ausführlich diskutieren, wenn wir die numerischen Resultate mit den experimentellen vergleichen.

Zuvor wenden wir uns noch kurz der aus dem Modell erhaltenen Gesamtfluoreszenzverstärkung zu. Wir berechnen sie nach Gleichung (5.3.11) als den Quotienten der Integrale von

verstärktem und unverstärktem Fluoreszenzspektrum

$$\frac{F_{\text{ges}}}{F_{\text{ges}0}} = \frac{\int_0^\infty F(\lambda) d\lambda}{\int_0^\infty F_0(\lambda) d\lambda} = g_{\text{exc}} \int_0^\infty g_{\text{em}}(\lambda) f_0(\lambda) d\lambda = g_{\text{exc}} \frac{\eta}{\eta_0}$$

Die Ergebnisse für die verschiedenen Dimere sind in Abb. 6.7b dargestellt. Größenordnungsmäßig liegt die Gesamtverstärkung in etwa zwischen 25 und 45. Diese im Vergleich zu beobachteten Ramanverstärkungen kleinen Werte liegen zum einen an nichtstrahlenden Verlusten durch Energietransfer, zum anderen an der Tatsache, dass die Anregungsfrequenz bewusst nicht resonant zum gekoppelten Plasmon der Dimere mit kleinem Partikelabstand gewählt wurde. Trotzdem ist die hier berechnete Gesamtfluoreszenzverstärkung in einem Dimer immer noch größer als die bei doppeltresonanter Anregung an Einzelpartikeln gemessenen Werte von etwa 10 bis 20 [23, 24].

Wie bereits zuvor erwähnt, variiert die Quanteneffizienz η nur schwach mit dem Abstand und beträgt ca. vier Fünftel von η_0 . Der Großteil der Gesamtfluoreszenzverstärkung entfällt daher auf die in Abb. 6.5 gezeigte Anregungsverstärkung. Auch die Abstandsabhängigkeit der Gesamtverstärkung wird von ihr dominiert. Obwohl es zunächst der Intuition zu widersprechen scheint, ist die Gesamtfluoreszenzverstärkung für die Dimere mit den größten der betrachteten Abstände maximal.¹ Dies liegt daran, dass bei diesen Dimeren die Anregungswellenlänge mit der Wellenlänge des gekoppelten Plasmons am besten übereinstimmt, und somit die Resonanz des Dimers für eine erhöhte Anregung sorgt. Der Einfluss der Emission, also der Quanteneffizienz, ist insbesondere daran zu erkennen, dass die Kurve der Gesamtverstärkung im Gegensatz zur Kurve der Anregungsverstärkung zu kleinen Abständen hin nach unten abknickt. Der Grund ist, dass hier der Energietransfer immer steiler ansteigt, während der Zuwachs der strahlenden Rate abflacht, da die Dimerresonanz mit zunehmender Rotverschiebung immer weniger mit der Farbstoffemission überlappt.

6.3 Vergleich von Experiment und Modell – Diskussion

Wir vergleichen nun die mit dem Modell berechneten Ergebnisse mit den experimentellen Daten. Dazu haben wir in Abbildung 6.8 die jeweiligen Hauptergebnisse einander gegenübergestellt.

Vergleichen wir zunächst die Streuspektren in Abb. 6.8a und Abb. 6.8c. Die Intensitäten der experimentellen Streuspektren zeigen den gleichen Trend wie die numerisch berechneten Streuquerschnitte. Lediglich das Streuspektrum des Partikels mit $\tilde{d} = 1,45$ nm fällt schwächer aus als erwartet. Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass dieses Dimer bei der Streuspektroskopie nicht perfekt im Fokus des Objektivs lag. Die Reproduzierbarkeit der Streuintensität ist in dem genutzten Mikroskopieaufbau generell begrenzt, daher wurden in den bisherigen Arbeiten an diesem Mikroskop die gemessenen Streulichtspektren meist normiert [47]. Anders ist die

¹Natürlich würde die Gesamtverstärkung wieder abfallen, wenn man die beiden Partikel noch wesentlich weiter voneinander entfernt.

6.3 Vergleich von Experiment und Modell – Diskussion

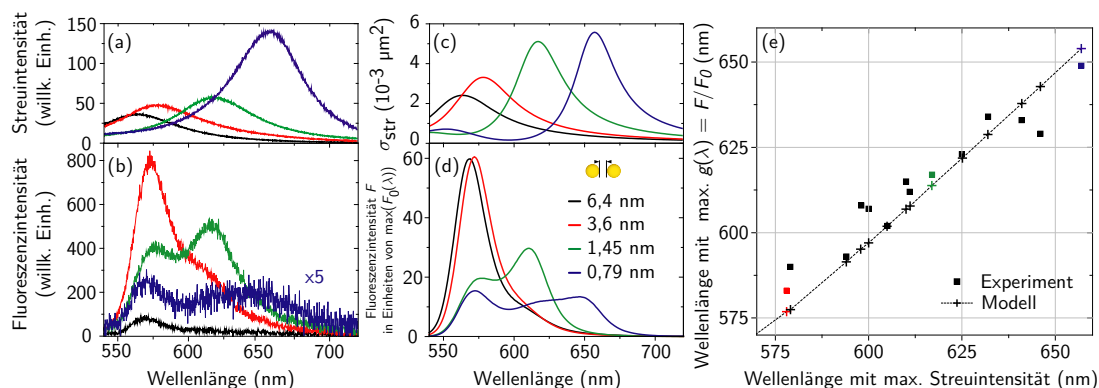


Abbildung 6.8: Purcell-Effekt in Nanopartikeldimer-Resonatoren. Experimentelle und numerische Ergebnisse im Vergleich. Der Purcell-Effekt verformt die Fluoreszenzspektren, indem resonante Übergänge verstärkt und nichtresonante Übergänge unterdrückt werden. **(a) Experimentelle Streuspektren** der longitudinalen Mode der Antikörper-Antigen-verknüpften Nanopartikeldimere, vgl. Abb. 6.3. **(b) Experimentelle Fluoreszenzspektren** von in der Proteinhülle der Dimere aus (a) eingelagertem Cy3-Fluoreszenzfarbstoff (longitudinale Mode). **(c) Berechnete Streuspektren** der longitudinalen Mode für Dimere aus Goldpartikeln mit 40 nm Durchmesser in Wasser bei den angegebenen Oberflächenabständen. **(d) Berechnete Fluoreszenzspektren** für Farbstoffe in der Mitte der Dimere aus (c) (longitudinale Mode). **(e) Experimentelle und berechnete Korrelation** zwischen per Streuspektroskopie gemessener Resonanzwellenlänge der Dimer-Resonatoren einerseits und Wellenlänge maximaler Fluoreszenzverstärkung andererseits.

Situation bei der *Form* der Spektren. Diese kann hoch reproduzierbar gemessen werden, und hier finden wir auch eine gute Übereinstimmung zwischen den gemessenen und den berechneten Spektren. Die experimentellen Spektren sind lediglich etwas breiter als die numerisch berechneten. Hauptsächlich liegt diese Abweichung der Resonanzbreiten darin begründet, dass die Dämpfung durch Oberflächenstreuung bei der Modellierung der Nanopartikel vernachlässigt wurde. Raschke et al. finden für schalenartig strukturierte Au/AuS-Partikel, deren Resonanz in einem ähnlichen Wellenlängenbereich liegt wie die der Dimere, dass circa 50 % der Dämpfung des Plasmons auf Streuung der Leitungsbandelektronen an der Partikeloberfläche zurückzuführen sind [181]. Die zusätzliche Dämpfung durch Oberflächenstreuung ist vermutlich auch der Grund dafür, dass in dem Streuspektrum des Dimers mit dem geringsten Partikelabstand das Nebenmaximum bei kurzen Wellenlängen nicht hervortritt, sondern vom Hauptmaximum überdeckt wird. Obwohl es nicht schwierig ist, die Oberflächendämpfung durch eine Modifikation der dielektrischen Funktion wie in [181] in das Modell einzubeziehen, haben wir hier davon Abstand genommen, da wir erstens die Anzahl der freien Parameter im Modell gering halten wollen¹ und zweitens aufgrund diverser anderer Näherungen des Modells – beispielsweise der Vernachlässigung von Proteinhülle und Substrat – ohnehin nur eine semiquantitative Übereinstimmung mit den Messdaten erwarten können. Für unsere Zwecke, das heißt für die Charakterisierung der Dimerresonatoren und die Bestimmung des Partikelabstands aus der Lage des Resonanzmaximums, ist die Übereinstimmung der berechneten mit den experimentellen Streuspektren auf jeden Fall gut genug.

¹Der einzige freie Parameter in unserem Modell ist der Partikelabstand.

Vergleichen wir nun die gemessenen Fluoreszenzspektren in Abb. 6.8b und die berechneten Fluoreszenzspektren in Abb. 6.8d, so stellen wir fest, dass die Gestalt entsprechender Spektren sehr gut übereinstimmt. Das scheint zunächst fast überraschend, wenn man bedenkt, dass wir die Fluoreszenzverstärkung im Modell ausschließlich für ein Molekül in der Dimermitte berechnet haben, während die Farbstoffmoleküle im Experiment über die gesamte Oberfläche der Goldpartikel verteilt sind. Diese vereinfachte Modellierung ist aber dadurch gerechtfertigt, dass die Zone der Feldverstärkung ausschließlich auf den Partikelzwischenraum beschränkt ist, wie wir in Abbildung 2.7 gesehen haben. Dadurch erfahren ausschließlich die Farbstoffmoleküle im Partikelzwischenraum eine nennenswerte Anregungsverstärkung und dominieren daher das Ensemblespektrum. Bei einer Anregungsverstärkung um den Faktor 40 – 60 im Partikelzwischenraum heißt das, dass mindestens ein Fünftel der Farbstoffmoleküle sich mehr oder weniger in der Dimermitte befinden muss.¹ Dies erscheint durchaus plausibel.

Die Intensität, die wir von einem farbstoffbeladenen Nanopartikeldimer aufsammeln, unterliegt wie schon bei den Streuspektren einer wesentlich höheren Messungenauigkeit als die Form der Spektren. Als weitere Faktoren bei der Fluoreszenzmessung kommen noch das recht schnelle Photobleichen der Farbstoffmoleküle und die unterschiedliche Zahl und Ausrichtung der Moleküle in den Heißpunkten verschiedener Dimere hinzu. Die zufälligen Schwankungen bei den Intensitäten betreffen allerdings die Form der Spektren nicht. Deshalb zeigt sich hinsichtlich der Form der Spektren, der hier unser Hauptaugenmerk gilt, eine weitgehende Übereinstimmung zwischen Modell und Rechnung.

Was können wir nun aus dieser Übereinstimmung zwischen unserer Modellrechnung und den experimentellen Daten über die Farbstoffe im Nanopartikeldimer lernen? Zunächst einmal gibt uns das Modell als zusätzliche Information, dass die beobachtete Verformung der Spektren ausschließlich auf die Änderung der strahlenden Übergangswahrscheinlichkeiten des Moleküls zurückzuführen ist. Denn die spektrale Abhängigkeit des Emissionsverstärkungsfaktors $g_{\text{em}}(\lambda)$ ist ja in unserem Modell ausschließlich durch den Purcellfaktor $g_r(\lambda)$ bestimmt, der die Änderung der strahlenden Übergangswahrscheinlichkeiten angibt. Die durch den Energietransferfaktor beschriebene Änderung der nichtstrahlenden Übergangswahrscheinlichkeiten hat keinen Einfluss auf die Form der Spektren. Sie wirkt sich nur auf die gemessene Gesamtintensität aus.

Wie genau sieht nun diese Änderung der strahlenden Übergangswahrscheinlichkeiten aus? In Abb. 6.8e sind die aus den Fluoreszenzspektren extrahierten Wellenlängen maximaler Fluoreszenzverstärkung gegen die aus den Streuspektren extrahierten Resonanzwellenlängen der Nanopartikeldimer-Resonatoren aufgetragen. In sehr guter Übereinstimmung weisen beide Datensätze eine nahezu lineare Abhängigkeit mit einer Steigung von ungefähr 0,95 auf. Dies zeigt, dass die Wahrscheinlichkeit für strahlende Übergänge selektiv bei der Resonanzfrequenz des jeweiligen Nanopartikeldimer-Resonators erhöht wird. Wie in Abb. 6.9 dargestellt ist es also für ein angeregtes Molekül wahrscheinlicher, durch Photonenemission in ein bestimmtes vibronisches Unterniveau des Grundzustands zu relaxieren, wenn der Übergang zu diesem

¹Wenn man fordert, dass der Beitrag der Moleküle im Partikelzwischenraum zehnmal so groß ist wie der Beitrag der Moleküle außerhalb.

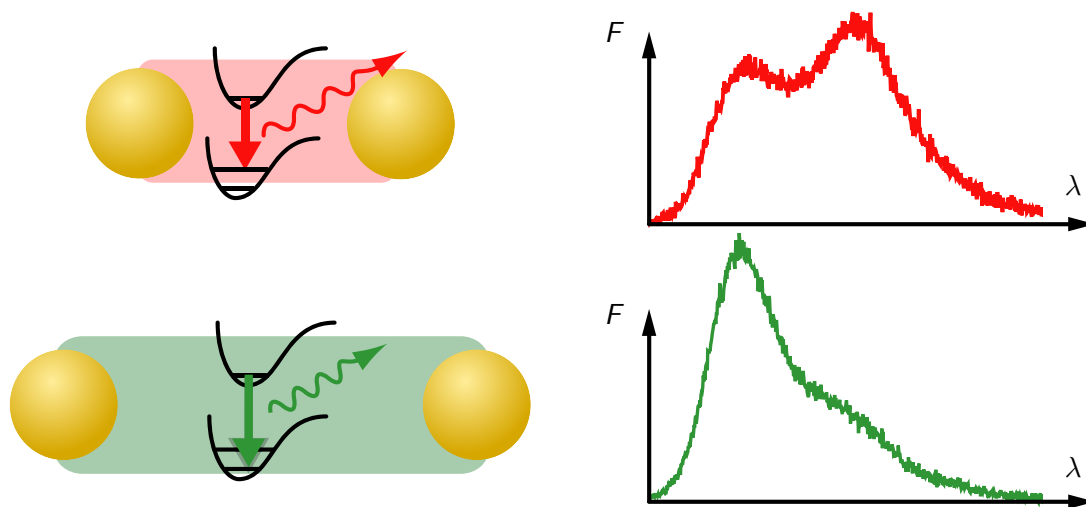


Abbildung 6.9: Änderung der strahlenden Übergangswahrscheinlichkeiten im Dimerresonator durch den Purcell-Effekt. Die Emission aus dem angeregten Zustand erfolgt vornehmlich in das vibronische Unterniveau des Grundzustands, dessen Energie genau um die Resonanzfrequenz des Nanopartikeldimers kleiner ist als die des angeregten Zustands. Bei unterschiedlichen Partikelabständen und damit unterschiedlichen Resonanzfrequenzen werden deshalb verschiedene vibronische Subbanden des Emissionsspektrums verstärkt.

Unterniveau resonant mit dem gekoppelten Plasmon des Dimers ist. Betrachtet man die zeitliche Evolution des angeregten Moleküls, so emittiert es am wahrscheinlichsten dann, wenn eine seiner fluktuierenden Übergangsfrequenzen die plasmonische Resonanz trifft.

Indem wir die Durchstimbarkeit der Dimerresonanz über den Partikelabstand ausgenutzt haben, konnten wir in diesem Kapitel zeigen, dass der Purcell-Effekt in Nanopartikeldimer-Nahfeldresonatoren in gleicher Weise wie in Microcavity-Fernfeldresonatoren resonante strahlende Übergänge selektiv verstärkt und dadurch das Emissionsspektrum eingebrachter Farbstoffe drastisch verformt. Der bei den Nanopartikeldimeren zusätzlich auftretende Energietransfer erhöht zwar die Zerfallsrate des angeregten Zustands, trägt aber nicht zur Verformung der Spektren bei. Damit stellt das hier beschriebene Experiment die erste direkte Messung des Purcell-Effekts in einzelnen plasmonischen Nanoresonatoren dar.

7 Ramaninduzierte Abstandsänderung in Nanopartikeldimeren

In Kapitel 6 wurde Fluoreszenz in Nanopartikeldimer-Resonatoren bei moderater Feldverstärkung im Partikelzwischenraum untersucht. Die Resonatorfrequenz war dabei statisch und durch die Präparation der Probe vorgegeben. Hier interessiert uns nun Ramanstreuung von Proteinen aus einem Dimerresonator, wenn der Ramanlaser mit dem Dimer in Resonanz ist. Wir werden zeigen, dass in dieser Situation das organische Molekül im Resonator diesem und dem erhöhten Feld in dessen Innerem nicht bloß passiv ausgesetzt ist. Vielmehr wirkt es auf den Resonator zurück und verstimmt ihn, indem es den Abstand zwischen den Nanopartikeln ändert. Ramanstreuung allein wurde an ähnlichen Systemen bereits früher gemessen [41–43]. Der in Abschnitt 3.2 beschriebene Mikroskopieaufbau erlaubt es uns aber, elastische und inelastische Lichtstreuung am gleichen Nanoresonator in kurzer zeitlicher Folge zu messen. Damit können wir nicht nur das ramanaktive Molekül, sondern zusätzlich und unabhängig davon den Nanoresonator beobachten. Als Probe verwenden wir die Streptavidin-Biotin-verbundenen Nanopartikeldimere, deren Herstellung und elektronenmikroskopische Charakterisierung in Kapitel 4 beschrieben ist.

7.1 Fluktuierende Ramanspektren

Ramanspektren an den Nanopartikeldimeren werden wie in Abschnitt 3.2.3 beschrieben mit der 632,8 nm-Linie eines Helium-Neon-Lasers gemessen. Die Intensität wird dabei stets kleiner als $100 \mu\text{W}/\mu\text{m}^2$ gehalten. Dreht man die Polarisierung des Ramanlasers, so ergibt sich das in Abb. 7.1 gezeigte Intensitätsprofil. Deutlich ist zu sehen, wie das Ramansignal maximal wird, wenn Feldvektor E und Dimerachse parallel sind (0° bzw. 180°), was darauf zurückzuführen ist, dass bei dieser Polarisierung die longitudinale Mode des Dimers angeregt wird und im Partikelzwischenraum einen elektromagnetischen Heißpunkt entstehen lässt (vgl. Abb. 2.7 und Abb. 2.10a). Dagegen ist das Ramansignal praktisch nicht messbar, wenn der Feldvektor senkrecht zur Dimerachse steht und es in der transversalen Mode nur zu einer sehr schwachen Feldverstärkung oder sogar zu einer Reduzierung des Feldes im Partikelzwischenraum kommt (vgl. Abb. 2.10c). Das gemessene Ramansignal ist also eindeutig auf oberflächenverstärkte Ramanstreuung aus dem Inneren des Nanopartikeldimer-Resonators zurückzuführen.

Bereits in Abbildung 7.1 zeigt sich, dass die Intensität des Ramanspektrums fluktuiert.

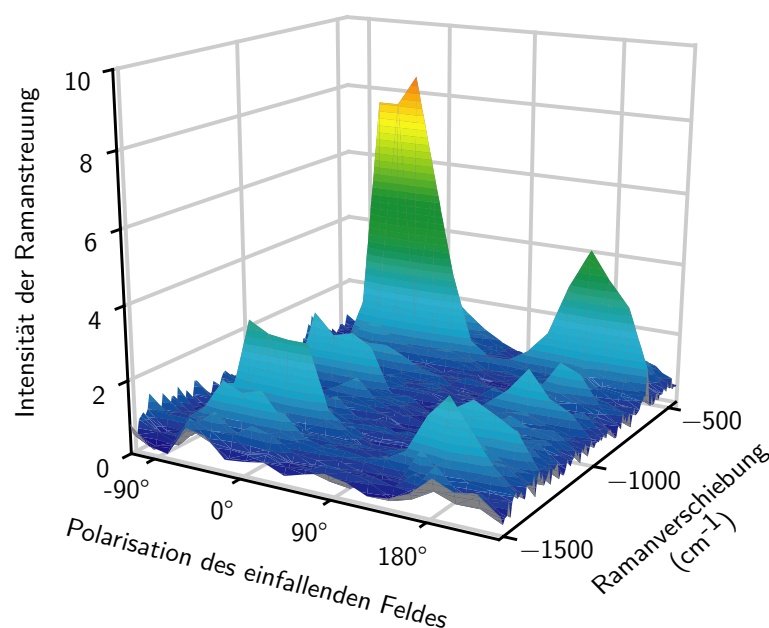


Abbildung 7.1: Polarisationsabhängigkeit der Ramanstreuintensität in Nanopartikeldimeren Ramanstreuung von Proteinen in Streptavidin-(RSA-Biotin)-verknüpften Nanopartikeldimeren. Die Lage der per Streuspektroskopie bestimmten Dimerachse ist mit 0° bzw. 180° bezeichnet.

Beispielsweise nimmt die Amplitude der Ramanlinie mit einer Ramanverschiebung von ungefähr 600 Wellenzahlen bei 0° und 180° deutlich verschiedene Werte an. Noch deutlicher werden diese Fluktuationen, wenn wir das Ramanspektrum über längere Zeit beobachten, wie in Abbildung 7.2 gezeigt. Hier sehen wir außerdem, dass sich durch die zeitlichen Fluktuationen der Intensität der einzelnen Linien die Form des Ramanspektrums als Ganzes ändert. Solche Fluktuationen kommen in Experimenten zur oberflächenverstärkten Ramanstreuung an wenigen Molekülen recht häufig vor [37, 40, 106, 182]. Sie erschweren die Identifikation und Zuordnung einzelner Linien der gemessenen Ramanspektren stark. In Abb. 7.2 können lediglich die sowohl bei Streptavidin als auch bei Rinderserumalbumin vorkommenden Amid-Banden mit einiger Sicherheit identifiziert werden. Die Amid-II-Bande liegt im Bereich von 1500 – 1600 cm^{-1} , die Amid-III-Bande im Bereich von 1200 – 1300 cm^{-1} [183, 184]¹. Zur Erklärung der Fluktuationen des Ramanspektrums bei oberflächenverstärkter Ramanstreuung an wenigen Molekülen sind bisher verschiedene Hypothesen aufgestellt worden. Unter anderem wurde vorgeschlagen, dass die Diffusion von Molekülen durch den Heißpunkt oder Ladungstransfer zum Molekül dafür verantwortlich seien [40, 182]. Für Proteine ist zudem bekannt, dass das Ramanspektrum stark von der Sekundärstruktur abhängt [183, 184, und Referenzen darin]. Alle diese Erklärungsansätze sind sozusagen molekülzentrisch. Die Möglichkeit, dass der Ramanprozess auf die ihn befördernde

¹ Beim Vergleich mit z. B. [183] sollte beachtet werden, dass bei oberflächenverstärkter Ramanstreuung die sonst geltenden Raman-Auswahlregeln verletzt werden können und daher auch die Banden des dort mit abgebildeten IR-Spektrums sichtbar werden können.

7.2 Verstimmung der Dimerresonatoren nach Ramanstreuung an den Proteinen im Partikelzwischenraum

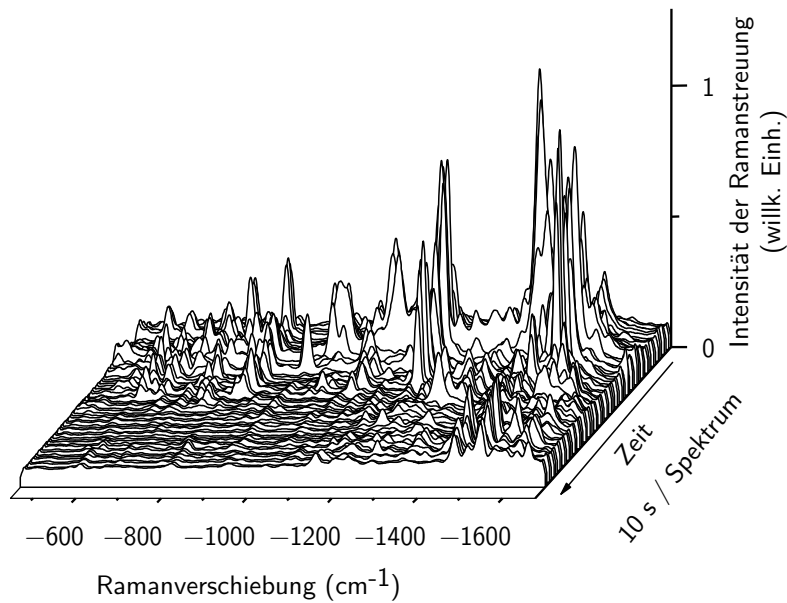


Abbildung 7.2: Fluktuierendes Ramanspektrum von Proteinen in einem Nanopartikeldimer. Die Spektren sind bei Anregung in der longitudinalen Mode aufgenommen. Die Integrationszeit für jedes Einzelspektrum beträgt 10 s.

resonante Nanostruktur zurückwirkt, ist bisher nicht in Betracht gezogen worden, da ein solcher Effekt mit den Mitteln der Ramanspektroskopie allein nicht nachzuweisen ist.

7.2 Verstimmung der Dimerresonatoren nach Ramanstreuung an den Proteinen im Partikelzwischenraum

In unserem Experiment kann die plasmonische Nanostruktur, die für die oberflächenverstärkte Ramanstreuung sorgt, unabhängig von der Ramanstreuung beobachtet werden, nämlich durch die Messung ihres elastischen Streuspektrums unter Weißlichtbeleuchtung. Wir nutzen diese Möglichkeit aus, um zu überprüfen, ob nicht zumindest ein Teil der in Abb. 7.2 beobachteten Fluktuationen auch auf eine Änderung der Resonatoreigenschaften der plasmonischen Nanostruktur zurückzuführen ist. Dazu messen wir an einzelnen Dimeren zunächst ein Weißlicht-Streuspektrum, dann eine Serie von Ramanspektren unter monochromatischer Laserbeleuchtung und schließlich ein weiteres Weißlicht-Streuspektrum.

Tatsächlich zeigen unsere Messungen deutlich, dass der Ramanprozess den Nanoresonator verändert. Exemplarische Daten sind in Abbildung 7.3 gezeigt. Betrachten wir zunächst die Serie in Teil (a)–(c) von Abb. 7.3. Bevor die Probe dem resonanten Laserlicht ausgesetzt wird, hat das Spektrum der elastischen Lichtstreuung sein Maximum bei 2,07 eV (Abb. 7.3a), entsprechend

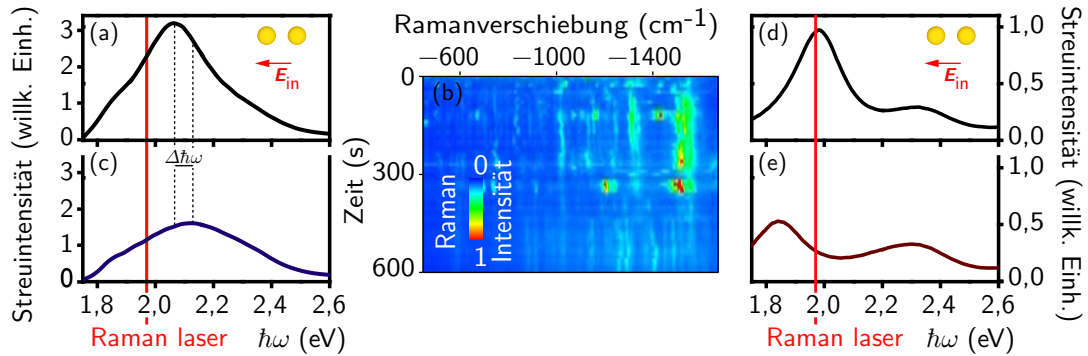


Abbildung 7.3: Verstimmung der Nanoresonatoren nach Detektion eines Ramansignals. (a) Anfängliches Streuspektrum der longitudinalen Mode eines Nanopartikeldimers. (b) Ramanspektren aus dem Partikelzwischenraum des selben Dimers. Die Laserfrequenz und -polarisation sind in (a) rot eingezeichnet. Das anfänglich starke Ramansignal fluktuiert und wird nach ca. 6 min deutlich schwächer. (c) Blauverschobene Plasmonresonanz nach der Ramanmessung. Die Verschiebung der Resonanzenergie um +50 meV entspricht einer Zunahme des Partikelabstands um 1 nm. (d) und (e) Rotverschiebung der Plasmonresonanz nach Ramanstreuung bei einem anderen Dimer. Die beobachtete Rotverschiebung um 130 meV entspricht einer Abnahme des Partikelabstands um 0,7 nm. Sowohl in (a)–(c) als auch in (d)–(e) wird die Plasmonresonanz gegen den Laser verstimmt.

einem Partikelabstand von $\tilde{d} = 2,3$ nm. Dieses Streuspektrum kann im Prinzip beliebig oft reproduziert werden und ist auch noch nach etwa einer Stunde im Weißlicht unverändert. Am gleichen Dimer werden nun während einer Gesamtdauer von 10 min Ramanspektren gemessen (Abb. 7.3b). Wir beobachten die bereits aus Abb. 7.2 bekannten Fluktuationen. Neben diesen Fluktuationen zeigt sich als weiteres typisches Merkmal, dass das Ramansignal nach einiger Zeit – in diesem Fall nach ca. sechs Minuten – schwach wird. Messen wir nun nach den Ramanspektren ein zweites Weißlicht-Streuspektrum, so zeigt sich, dass sich die Eigenschaften des Nanoresonators während der Ramanmessung deutlich geändert haben. Das longitudinale Plasmon ist im Vergleich zu vorher um $\Delta\hbar\omega = 50$ meV blauverschoben, was einer Zunahme des Partikelabstands von 2,3 nm auf ca. 3,3 nm entspricht. Wir stellen die Diskussion dieser Beobachtung zunächst zurück und halten lediglich fest, dass wir an dem Nanoresonator aus Abb. 7.3a–c einerseits fluktuierende und schwächer werdende Ramanstreuung aus dem Heißpunkt im Partikelzwischenraum und andererseits eine Blauverschiebung des gekoppelten Plasmons gemessen haben. Die Untersuchung einer größeren Zahl von Dimeren zeigt, dass Ausmaß und Richtung der Plasmonverschiebung stark variieren. Das heißt insbesondere, dass nach der Ramanstreuung neben der Blauverschiebung des Plasmons auch eine Rotverschiebung vorkommt. Ein Beispiel ist in Abb. 7.3d–e gezeigt. Hier ist die Plasmonresonanz von ihrem prä-Raman-Wert von $\hbar\omega = 1,98$ eV post-Raman auf etwa 1,84 eV verschoben, was einer Abnahme des Partikelabstands von 1,1 nm auf 0,4 nm entspricht.

Neben diesen beiden Klassen – Plasmon-Rotverschiebung nach Ramanstreuung und Plasmon-Blauverschiebung nach Ramanstreuung – gibt es eine dritte Gruppe von Dimeren, die weder Ramanstreuung noch Plasmonverschiebung zeigen, wenn sie mit dem Laser beleuchtet werden. Ein Beispiel ist in Abbildung 7.4a–c dargestellt. Wieder messen wir zuerst ein Weißlicht-

7.3 Diskussion – Ramaninduzierte Abstandsänderung

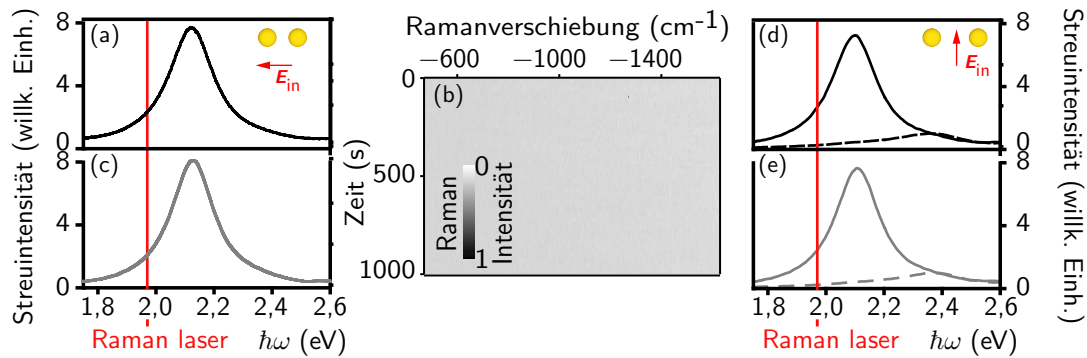


Abbildung 7.4: Unverstimte Nanoresonatoren nach Laserexposition bei Abwesenheit eines Ramansignals. (a)–(c) Kein Protein am Heißpunkt. Der Nanoresonator ($\bar{d} = 3,8 \text{ nm}$) wird bei der Ramanmessung in der longitudinalen Mode beleuchtet, so dass es im Partikelzwischenraum eine hohe Feldverstärkung gibt. Dennoch wird kein Ramansignal detektiert (b), was bedeutet, dass sich kein ramanaktives Molekül am Heißpunkt befindet. Das Streuspektrum des Nanoresonators ist nach der Laserexposition unverändert (a),(c). **(d)–(e) Kein Heißpunkt.** Hier wird der Nanoresonator bei der Ramanmessung in der transversalen Mode beleuchtet. Das Feld wird daher vom Nanoresonator kaum verstärkt und es werden weder Ramanstreuung noch Plasmonverschiebung gemessen. Das Streuspektrum in der transversalen Mode ist gestrichelt eingezeichnet.

Streuspektrum der longitudinalen Resonanz (Abb. 7.4a) und setzen den Nanoresonator dann dem Licht des Ramanlasers aus, das auch hier entlang der Dimerachse polarisiert ist. Im Gegensatz zur Situation in Abb. 7.3b wird jedoch kein Ramansignal detektiert (Abb. 7.4b). Nach einer Messzeit von 1000 s stellen wir den Laser aus und messen ein zweites Weißlichtstreuungsspektrum. Der entscheidende Punkt ist nun, dass wir in diesem Fall – und in allen Fällen, in denen keine Ramanstreuung gemessen wird – *keine* Änderung des Streuspektrums und insbesondere *keine* Plasmonverschiebung messen (Abb. 7.4c). Umgekehrt ist, immer wenn Ramanstreuung auftritt, auch eine mal mehr mal weniger große Verschiebung des Plasmons zu beobachten.

Die Ergebnisse der gesamten Studie sind in Abbildung 7.5 zusammengefasst. Aufgetragen ist die Plasmonverschiebung nach Beleuchtung mit dem Ramanlaser gegen die anfängliche Lage der Resonanz. Es zeigt sich eine beinahe perfekte Korrelation zwischen der Detektion eines Raman-Signals einerseits und einer Verstimmung der Dimerresonanz nach der Beleuchtung mit dem Laserlicht andererseits. Es liegt also nahe, dass der Ramanprozess für die Verstimmung der Nanoresonatoren verantwortlich ist.

7.3 Diskussion – Ramaninduzierte Abstandsänderung

Einer der Kerngedanken dieser Arbeit ist, dass es bei Nanopartikeldimeren eine Eins-zu-Eins-Entsprechung zwischen dem Partikelabstand und der Frequenz der longitudinalen Resonanz gibt. Die beobachteten Plasmonverschiebungen sind also ein eindeutiges Signal für eine Änderung des Partikelabstands. Schiebt das Plasmon ins Rote, so bedeutet dies eine Verkürzung des Partikelabstands; schiebt das Plasmon ins Blaue, so bedeutet das eine Zunahme des Partikelabstands.

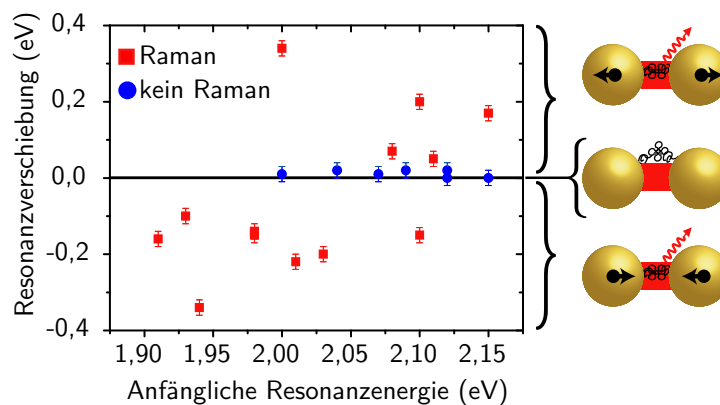


Abbildung 7.5: Verschiebungen der longitudinalen Resonanzen aller Nanopartikeldimere, hier gegen die anfängliche Resonanzenergie aufgetragen. Die Messung einer Plasmonverschiebung ist beinahe perfekt korreliert mit der Messung eines oberflächenverstärkten Ramansignals. Der rechte Teil der Grafik zeigt die der jeweiligen Plasmonverschiebung zugrundeliegenden Änderungen des Abstands zwischen den Nanopartikeln.

Und eine unveränderte Plasmonresonanz zeigt einen unveränderten Partikelabstand. Dies ist auf der rechten Seite von Abbildung 7.5 durch die schwarzen Pfeile an den Goldnanopartikeln angedeutet. Dabei muss man sich vergegenwärtigen, dass bereits eine vergleichsweise winzige Abstandsänderung um wenige Å eine durchaus messbare Verschiebung der Plasmonresonanz bedeuten kann (vgl. Abb. 2.5b), wenn der anfängliche Abstand der Partikel gering genug ist.

Wie kann nun Ramanstreuung für eine Abstandsänderung der Partikel verantwortlich sein? In unserem System sind die ramanaktiven Moleküle – die Proteine im Partikelzwischenraum – gleichzeitig die Verbindungsglieder und Abstandshalter zwischen den Nanopartikeln. Durch die Verstärkung der Stokes-Ramanstreuung werden diese Proteine ständig vibronisch angeregt. Für ähnliche Systeme wie die hier studierten ist sogar ein signifikanter Populationstransfer in angeregte vibronische Zustände berichtet worden [38, 185–188]. In jedem Fall erfährt das Protein im Partikelzwischenraum eine fortwährende Anregung seiner mechanischen Freiheitsgrade. Berücksichtigen wir nun, dass die Energielandschaft eines solchen Proteins „Millionen von Konformationsminima und eine noch größere Zahl an diese verbindenden Pfaden besitzt“ [189], so erscheint es durchaus wahrscheinlich, dass die fortwährende Anregung der mechanischen Freiheitsgrade des Proteins dazu führt, dass sich die Konformation des Moleküls ändert und dass diese Konformationsänderung des Verbindungsglieds und Abstandshalters zwischen den Nanopartikeln eine Änderung des Partikelabstands nach sich zieht. Tatsächlich ist selbst für Dipeptide, deren Energielandschaft verglichen mit der eines kompletten Proteins wesentlich einfacher strukturiert ist und somit vermutlich größere „Stufen“ enthält, eine solche Konformationsänderung durch optische Anregung der vibronischen Freiheitsgrade nachgewiesen worden [189].

Mit dieser Interpretation können wir auch das verschiedene Verhalten der im Experiment beobachteten Dimerklassen aus Abb. 7.5 verstehen. Betrachten wir zunächst die Klasse der

7.3 Diskussion – Ramaninduzierte Abstandsänderung

Dimere, für die sowohl Ramanaktivität als auch eine Abstandsänderung detektiert wird. In diesem Fall befindet sich das abstandsbestimmende Protein tatsächlich ganz oder teilweise im Partikelzwischenraum. Wird nun das Nanopartikeldimer vom mehr oder weniger resonanten Licht des Ramanlasers getroffen, so resultiert eine hohe Verstärkung des Feldes im Partikelzwischenraum bei gleichzeitig verbesserter Abstrahlungsmöglichkeit für das ramangestreuete Photon. Für einen Partikelabstand von beispielsweise 1,3 nm ergibt sich eine Feldverstärkung um den Faktor 50 (grüne Kurve in Abb. 2.10a) und ein Purcellfaktor von ca. 8×10^4 (grüne Kurve in Abb. 6.6b). Damit steigt die Wahrscheinlichkeit für Ramanstreuung drastisch an, in unserem Beispiel um den Faktor $50^2 \times 8 \times 10^4 = 2 \times 10^8$, wenn wir nur die elektromagnetische Verstärkung berücksichtigen. Die resultierende fortwährende Anregung der mechanischen Freiheitsgrade des Proteins führt zu Konformationsänderungen. Und die Konformationsänderungen des Proteins im Partikelzwischenraum führen ihrerseits dazu, dass sich der Abstand zwischen den Goldpartikeln ändert, was wiederum eine Verschiebung der Resonanzfrequenz des Dimers zur Folge hat.

Dieser Prozess ist besonders wahrscheinlich, wenn die Laserfrequenz mit der Resonanz des Dimers übereinstimmt, da dann eine hohe Feldverstärkung für das eingestrahlte und ein hoher Purcellfaktor für das ramangestreuete Licht wirksam werden. Im Umkehrschluss erkennen wir, dass ein Nanopartikeldimer, das durch eine zufällige Abstandsänderung gegen den Laser verstimmt wird, mit hoher Wahrscheinlichkeit auch verstimmt verbleiben wird. Denn durch die Verstimmung sinkt ja die Wahrscheinlichkeit einer weiteren ramaninduzierten Abstandsänderung. Dies erklärt die Beobachtung, dass die Plasmonresonanz post-Raman tendenziell mehr gegen den Laser verstimmt ist als prä-Raman, ebenso wie die Beobachtung, dass das Ramansignal mit der Zeit schwächer wird.

Bei den Nanoresonatoren, aus denen keine Ramanstreuung messbar ist, befindet sich das Protein, das die Nanopartikel verbindet, außerhalb des elektromagnetischen Heißpunkts, wie in der mittleren Skizze in Abb. 7.5 angedeutet. Es kommt so zu keiner oder nur schwach verstärkter Ramanstreuung an dem Protein, so dass es nicht vibronisch angeregt wird und somit auch seine Konformation nicht ändert. Ein ähnliches Szenario ergibt sich, wenn wie in Abb. 7.4d-e die transversale Mode des Dimers adressiert wird. In diesem Fall mag das Protein zwar in der Mitte zwischen den Partikeln liegen, aber da sich dort kein Heißpunkt ausbildet, kommt es ebenfalls weder zu verstärkter Ramanstreuung noch zur Konformationsänderung des Proteins und zur daraus resultierenden Längenänderung und Verstimmung des Dimerresonators.

Die Anregung mit dem resonanten Laserstrahl kann im Prinzip auch über andere Mechanismen eine Abstandsänderung zwischen den Partikeln bewirken. Aber keiner dieser Mechanismen vermag die experimentellen Beobachtungen zufriedenstellend zu erklären. Zunächst könnte man annehmen, dass die Nanopartikel soviel Energie aus dem Laserstrahl absorbieren, dass sie schmelzen oder die Umgebung so weit aufheizen, dass sich die Konformation des abstandsbestimmenden Proteins thermisch bedingt ändert. Der Hauptmangel dieser Hypothese liegt darin, dass sie die beobachtete Korrelation zwischen Ramanstreuung und Abstandsänderung nicht erklärt. Außerdem zeigt die Finite-Elemente-Simulation der Wärmedissipation in Abb. 7.6, dass

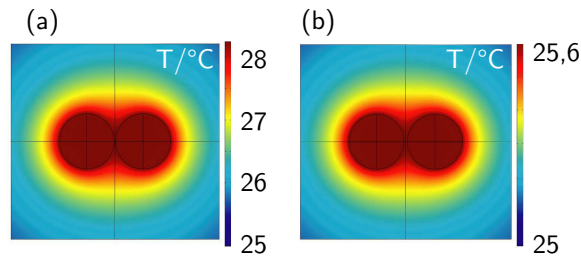


Abbildung 7.6: Erwärmung des Nanopartikelresonators bei $S_{\text{in}} = 50 \mu\text{W}/\mu\text{m}^2$ in der longitudinalen Mode. (a) $\tilde{d} = 0,8 \text{ nm}$. (b) $\tilde{d} = 2,3 \text{ nm}$. Rechnung von Calin Hrelescu und Joachim Stehr.

für eine Laserintensität von $S_{\text{in}} = 50 \mu\text{W}/\mu\text{m}^2$ die Temperatur lokal um maximal 3 K ansteigt. Eine Temperatur von 3 K über der Raumtemperatur reicht definitiv nicht aus, um die Partikel zu schmelzen, und erscheint auch zu gering, um eine Umfaltung des Proteins zu bewirken. Die Kraft, die zur Umfaltung eines Proteins erforderlich ist, liegt in der Größenordnung von 10 pN und mehr [190–192]. Eine Streckung um 1 nm wie in Abb. 7.3a–c erfordert also eine Energie von mindestens 125 meV, also von in etwa dem Fünffachen der thermischen Energien in unserem Experiment. Im Gegensatz dazu beträgt die typische beobachtete Ramanverschiebung etwa 1500 cm^{-1} (Abb. 7.3b), so dass also jedes ramangestreute Photon eine vibronische Energie von 186 meV hinterlässt.

Als weiteren Erklärungsansatz kann man in Erwägung ziehen, dass optische Kräfte, die durch den hohen Feldgradienten im Heißpunkt auftreten können [193, 194], den Abstand der Partikel ändern. Wären jedoch tatsächlich optische Kräfte für die Abstandsänderung verantwortlich, so würde diese auch bei Dimeren auftreten, die keine Ramanstreuung zeigen. Das ist jedoch nicht der Fall: Abstandsänderungen werden nur nach Ramanaktivität beobachtet (Abb. 7.5).

In den in diesem Kapitel beschriebenen Experimenten haben wir also gezeigt, dass oberflächenverstärkte Ramanstreuung an den Verknüpfungs-Proteinen in einem Nanopartikeldimer den Abstand zwischen den Nanopartikeln ändert und dadurch den von ihnen gebildeten Resonator verstimmt. Diese Beobachtung kann dadurch erklärt werden, dass das durch die Ramanstreuung vibronisch angeregte Protein im Partikelzwischenraum seine Konformation ändert und dadurch die Nanopartikel zusammenzieht oder auseinanderdrückt. Wird zufällig eine Konfiguration erreicht, in der das gekoppelte Plasmon des Dimers nicht mehr in Resonanz mit dem Ramanlaser ist, nimmt die Ramanstreuung ab und die Nanopartikel hören auf, sich zu bewegen.

Schließlich sei noch angemerkt, dass die Nanopartikel der Dimere im in Kapitel 6 beschriebenen Fluoreszenzexperiment sich nicht bewegen: die Streuspektren vor und nach Fluoreszenzanregung sind dort stets identisch. Dies liegt daran, dass dort geringere Anregungsintensitäten eingesetzt worden sind: $0,6 \mu\text{W}/\mu\text{m}^2$ verglichen mit $50 \mu\text{W}/\mu\text{m}^2$ bei der Ramanstreuung. Außerdem ist bei der Fluoreszenzmessung die Anregungsfrequenz nicht in Resonanz mit dem Plasmon der Dimere mit kleinen Abständen, so dass die Feldüberhöhung im Heißpunkt moderat bleibt.

8 Zusammenfassung und Ausblick

In der vorliegenden Dissertation wurden Raman- und Fluoreszenzverstärkung in einzelnen proteinverknüpften Goldnanopartikeldimeren untersucht. Durch die Korrelation des Fluoreszenzbeziehungsweise Ramanspektrums mit dem Spektrum der elastischen Lichtstreuung konnten wir neue Erkenntnisse gewinnen zur wechselseitigen Beeinflussung von elektromagnetischen Hotspots in plasmonischen Nanostrukturen und Fluoreszenz beziehungsweise Ramanstreuung dort befindlicher organischer Moleküle.

In einer Serie von Messungen an Nanopartikeldimer-Resonatoren mit verschiedenen Partikelabständen konnten wir zeigen, dass das Fluoreszenzspektrum des Farbstoffes Cy3 in einem solchen Nahfeldresonator durch den Purcell-Effekt selektiv bei der Resonanzfrequenz überhöht wird und dass sich somit ein Nahfeldresonator in dieser Hinsicht ganz ähnlich wie ein Fernfeldresonator verhält. Für ein angeregtes Farbstoffmolekül ist es zu einem gegebenen Zeitpunkt wahrscheinlicher, durch Photonenemission in ein bestimmtes vibronisches Unterniveau des Grundzustands zu relaxieren, wenn der Übergang zu diesem Unterniveau resonant mit dem Dimer ist. Zeitlich gesehen emittiert es am wahrscheinlichsten dann, wenn eine seiner fluktuierenden Übergangsfrequenzen mit der plasmonischen Resonanz zusammenfällt. Die experimentellen Ergebnisse stimmen sehr gut mit numerischen Ergebnissen überein, die wir mit einem in großen Teilen neu entwickelten Modell der Fluoreszenzverstärkung in Nanopartikelaggregaten erzielt haben. Dies zeigt, dass die Verformung der Spektren – wie im Modell angenommen – ausschließlich auf die Änderung der Wahrscheinlichkeiten strahlender Übergänge zurückzuführen ist. Damit ist das Experiment gleichzeitig auch die erste direkte Messung der Verstärkung der strahlenden Übergangswahrscheinlichkeiten in einem einzelnen plasmonischen Resonator. Darüber hinaus zeigt die gemessene Verschiebung der Emissionsfrequenz von Cy3 in Nanopartikeldimeren, dass die allgemein übliche Modellierung eines Farbstoffes in der Nähe einer plasmonischen Nanostruktur als Zwei-Niveau-System mit nur einer einzigen Übergangsfrequenz eine zu starke Vereinfachung darstellt.

Experimente zur Ramanstreuung an Proteinen in einzelnen Nanopartikeldimeren zeigten neben den erwarteten Fluktuationen der Ramanlinien eine Verschiebung der Dimerresonanz genau dann, wenn zuvor Ramanaktivität gemessen wurde. Dies führte zu dem Resultat, dass Raman-angeregte Moleküle auf die Geometrie und die Resonanzen von Nanopartikelaggregaten, wie sie üblicherweise zur Messung oberflächenverstärkter Ramanstreuung eingesetzt werden, zurückwirken können. Dieses Ergebnis ist von allgemeiner Bedeutung für die Entwicklung und das Verständnis von Raman-Sensoren, die Oberflächenverstärkung ausnutzen. Es muss als

alternative Erklärung oder zusätzliche Quelle von Blinken, spektraler Diffusion und Bleichen in Experimenten und Anwendungen der oberflächenverstärkten Ramanstreuung berücksichtigt werden. Die Tatsache, dass die Plasmon-Resonanz von der Laser-Frequenz weg verschoben wird, lässt sich möglicherweise für adaptive spektrale Filter aus Metallnanostrukturen ausnutzen, die so mit geringerer Intensität als bisher gesteuert werden könnten [195, 196].

Für zukünftige Forschungen ergeben sich ebenfalls einige interessante Perspektiven. Wie zu Beginn dieser Arbeit erläutert ist der Übergang vom Einzelpartikel zum Dimer zwar der Schritt mit den weitreichendsten Konsequenzen für die plasmonische Resonanz. Dennoch wäre es interessant, gezielt Strukturen aus mehr als zwei Partikeln zu untersuchen, und zwar weniger Dreiecke, Quadrate und dergleichen als vielmehr lineare Ketten von drei, vier, fünf und mehr Partikeln [197–199]. Zum einen lassen sich damit noch etwas höhere Feldverstärkungen erreichen, zum anderen könnte ein qualitativ neuer Effekt hinzukommen, wenn die Retardierung über die Länge der Kette maßgeblich wird, wenn also die Kettenlänge sich der Größenordnung der halben Wellenlänge annähert und die Kette damit sowohl einen Nah- als auch einen Fernfeldresonator bildet. Nahfeld, Streu- und Absorptionsquerschnitt solcher Ketten können ebenso wie Fluoreszenz- und Ramanverstärkung darin mithilfe der im Rahmen dieser Arbeit erstellten Computerprogramme mit geringstem Aufwand berechnet werden, was das Konzipieren interessanter Proben maßgeblich erleichtern sollte.

Anhang

A GMM – ein FORTRAN-Programm zur Berechnung der verallgemeinerten Mie-Streuung

Das Programm GMM [200] implementiert die in Kapitel 2 dieser Arbeit wiedergegebene verallgemeinerte Mie-Theorie nach [58, 59, 63, 64]. Als Hauptunterschied zu diesen Veröffentlichungen und der mit diesen übereinstimmenden Darstellung in dieser Arbeit wird allerdings eine andere Normierung E_{mn} verwendet als in Gleichung (2.1.7). Details dazu finden sich in der dem Programm beiliegenden Dokumentation. Das Programm GMM berechnet für ein gegebenes Aggregat sphärischer Nanopartikel die Streu-, Extinktions- und Absorptionsquerschnitte¹ für eine ebene Welle gegebener Wellenlänge. Der Ablauf des Programms ist in Abbildung A.1 dargestellt.

```
Data:  $n_{\max}, \lambda, N; \mathbf{r}^\beta, R^\beta, \varepsilon_I^\beta$   
Result:  $\sigma_{\text{str}}, \sigma_{\text{ext}}, \sigma_{\text{abs}}$   
begin  
  Lese Wellenlänge;  
  Lese Aggregatparameter;  
  Berechne Mieoeffizienten für alle Sphären ;                               // Gl. (2.1.11)  
  Berechne Vektortranslationskoeffizienten ;                               // Gl. (2.2.13), (5.2.8)  
  Entwickle einfallende Welle  $\rightarrow p_{mn}^{0\beta}, q_{mn}^{0\beta}$  ;                       // Gl. (2.1.15), (2.2.12)  
  Berechne Streukoeffizienten  $\rightarrow a_{mn}^\beta, b_{mn}^\beta$  ;                               // Gl. (2.2.17)  
  Berechne Streuquerschnitt ;                                              // Gl. 21 in [64]  
  Berechne Extinktions- und Absorptionsquerschnitte ;                     // Gl. 38 in [63]  
  Ausgabe;  
end
```

Abbildung A.1: Programmablauf von GMM

Das Programm verwendet keine externen Bibliotheken und kann mit den FORTRAN-Compilern der GNU Compiler Collection, gfortran und g77, auf allen Plattformen kompiliert werden, auf denen diese verfügbar sind. Für die vorliegende Arbeit wurden gfortran (gcc 4.2.1) unter SUSE Linux und g77 (gcc 3.4.4) unter Windows/Cygwin eingesetzt. Aus den gleichen Eingangsdaten erzeugen GMM und das in [108] verwendete, kommerziell erhältliche Programmpaket MQAggregates von Michael Quinten [201] die gleichen Resultate. GMM ist deutlich schneller und wesentlich leichter in Skripte einzubinden, was zum Beispiel das automatisierte Berechnen von Dimer-Streuspektren für eine Serie von Partikelabständen ermöglicht.

¹ Außerdem die Streu- oder Müller-Matrix, die uns hier aber nicht interessiert.

B GMM-FIELD – eine GMM-Erweiterung zur Berechnung des Nahfeldes

Für das Verständnis der Dimerresonatoren und für die Berechnung von Fluoreszenz- und Ramanstreuung in ihrem Inneren ist es notwendig, das lokale elektrische Feld zu kennen. GMM berechnet aber nur Streu- und Extinktionsquerschnitte, also Fernfeldgrößen. Daher war es für diese Arbeit erforderlich, GMM als GMM-FIELD entsprechend zu erweitern.¹

Das Feld im Außenraum \mathcal{A} der Partikel ist die Summe $E = E_{\text{in}} + E_{\text{str}}$. Dabei ist das anregende Feld E_{in} im Falle einer ebenen Welle trivial als $\exp(ikz) \hat{e}_x$ zu berechnen. Zur Berechnung des Streufeldes gibt es zwei Möglichkeiten. Die erste Möglichkeit besteht darin, eine gemeinsame Repräsentation des Streufeldes als Entwicklung in den sphärischen Vektorwellenfunktionen eines bestimmten Partikels oder eines beliebigen anderen Punktes zu konstruieren und diese dann an allen Punkten des Gitters der interessierenden Punkte G auszuwerten. Die zweite Möglichkeit ist die, die Koordinaten jedes Gitterpunktes für jede der beteiligten Kugeln in das kugeleigene Koordinatensystem umzurechnen, dann das partielle Streufeld E_{str}^β der betreffenden Kugel an diesem Punkt aus deren partiellen Streukoeffizienten zu berechnen und schließlich die Beiträge aller Kugeln zu summieren. Wir haben hier die zweite Strategie gewählt, der Ablauf der in GMM-FIELD zu GMM hinzugefügten Feldberechnungsroutine ist in Abbildung B.1 dargestellt.

Die blau gekennzeichneten Schritte werden als eigenständige Subroutinen implementiert, für die anderen Schritte kann entweder auf vorhandene Subroutinen von GMM zurückgegriffen werden oder sie sind in der Feldberechnungsroutine selbst implementiert. Den größten Aufwand verlangt die Berechnung der sphärischen Vektorwellenfunktionen M_{mn}^3 und N_{mn}^3 , weil dazu die speziellen Funktionen π_{mn} , τ_{mn} , P_n^m , h_n^1 und die Ableitung $\frac{d}{dz}(zh_n^1(z))$ für alle m und $n \leq n_{\text{max}}$ berechnet werden müssen. Glücklicherweise können für π_{mn} , τ_{mn} und h_n^1 vorhandene Subroutinen von GMM genutzt werden. Die Ableitung $\frac{d}{dz}(zh_n^1(z))$ wird mit Hilfe der Identität 10.1.21 aus [202]

$$\frac{d}{dz}(zh_n^1(z)) = zh_{n-1}^1(z) - nh_n^1(z) \quad (\text{B.1})$$

erhalten. Die assoziierten Legendrefunktionen P_n^m werden für $m \neq 0$ nach Gl. (2.1.6) aus π_{mn} berechnet:

$$m P_n^m(z) = \pi_{mn}(z) \sqrt{1-z^2} \quad \text{für } z = \cos \theta \quad (\text{B.2})$$

P_n^0 berechnen wir mit Hilfe der Rekursion 8.5.3 aus [202]

$$(n-m+1) P_{n+1}^m(z) = (2n+1) z P_{n+1}^m(z) - (n+m) P_{n-1}^m(z) \quad (\text{B.3})$$

¹Der Quelltext von GMM-FIELD sowie einige Anwendungsbeispiele aus dieser Arbeit sind unter http://moritz-ringler.name/dissertation/GMM_FIELD.tar.bz2 verfügbar.

```

Data:  $\lambda, \beta_{\max}, n_{\max}, \mathbf{r}^\beta, R^\beta; a_{mn}^\beta, b_{mn}^\beta; G$ 
Result:  $E(x, y, z)$  für alle  $(x, y, z) \in G \cap \mathcal{A}$ 
begin
  Lese Gitterdefinition aus grid.in  $\rightarrow G$ ;
  Berechne Normierungsfaktoren  $\rightarrow E_{mn}$ ;
  forall  $(x, y, z) \in G$  do
     $E = (\exp(ikz), 0, 0)$ ;
    // zur Berechnung des Streufeldes allein:
    //  $E = 0$ 
    for  $1 \leq \beta \leq \beta_{\max}$  do
      Berechne in Kugelkoordinaten  $((x, y, z) - \mathbf{r}^\beta) \rightarrow (r, \varphi, \theta)$ ;
      if  $r \leq R^\beta$  then
        // Setze Feld im Kugellinneren auf Null.
         $E = 0$ ;
        break;
      end
      Berechne Vektorwellenfunktionen  $M_{mn}^3(\lambda, r, \varphi, \theta), N_{mn}^3(\lambda, r, \varphi, \theta)$ ; // Gl. (2.1.5)
      Berechne partielles Streufeld  $\rightarrow E_{\text{str}}^\beta$ ; // Gl. (2.1.10a)
      Berechne kartesische Komponenten des partiellen Streufeldes;
       $E = E + E_{\text{str}}^\beta$ 
    end
    Schreibe  $x \ y \ z \ \Re(E_x) \ \Im(E_x) \ \Re(E_y) \ \Im(E_y) \ \Re(E_z) \ \Im(E_z) \|E\|$  nach field.dat
  end
end

```

Abbildung B.1: Feldberechnungsroutine in GMM-FIELD

sowie $P_0^0(z) = 1$ und $P_1^0(z) = z$. Um mit dem Rest von GMM konsistent zu sein, müssen diese P_n^0 mit dem Faktor $\sqrt{(2n+1)/(n(n+1))}$ multipliziert werden.

Beispiel

Als Beispiel geben wir hier die Eingabedateien wieder, die zur Berechnung der Feldverstärkung in der longitudinalen Mode in Abschnitt 5.4 bzw. in [44] genutzt worden sind. Als globale Längeneinheit haben wir hier Mikrometer verwendet. Betrachten wir zunächst die GMM-Eingabedatei gmm01f.in. Diese Datei legt insbesondere fest, dass die Parameter von Aggregat und einfallender Welle aus der Datei au-2s-532nm.k gelesen werden sollen und dass die Multipolentwicklungen frühestens bei der einundzwanzigsten Ordnung abgebrochen werden sollen. Die weiteren Zeilen sollen uns hier nicht interessieren, sie sind in der GMM beiliegenden Dokumentation erläutert.

```

au-2s-532nm.k
1 1 1
0. 0. 0. 0. 0. 0.

```

```
0
0
0 10000
0.7 0.7 100 = iteration control
20 = minimum multipole order
1.d-20 1.d-10
0.
0. 0.
```

Die Datei für die Aggregat- und Felddefinition au-2s-532nm.k sieht wie folgt aus:

```
0.532 = wavelength
2 = number of spheres
-0.05 0.0 0.01 0.03 0.5440 2.2304 = x1,y1,z1; R1; Re(n),Im(n) at 532 nm
0.05 0.0 0.01 0.03 0.5440 2.2304 = x2,y2,z2; R2; Re(n),Im(n) at 532 nm
```

Hier werden die Wellenlänge, die Anzahl der Partikel, deren Koordinaten und Radien sowie der komplexe Brechungsindex der Partikel bei der Anregungswellenlänge angegeben. Das Zentrum der Partikel sitzt bei $z = +10$ nm, denn wir wollen das Feld in der Farbstoffkugel berechnen und setzen daher den Koordinatenursprung in deren Zentrum. Die Goldpartikel und die Farbstoffkugel liegen auf der gleichen Unterlage; die Farbstoffkugel hat einen um 10 nm kleineren Radius und das Anregungslicht fällt von unten in positiver z -Richtung ein. Die Dimerachse erstreckt sich in x -Richtung, da wir die longitudinale Mode betrachten wollen und das Programm immer eine x -polarisierte Welle annimmt. Aus dem Abstand von $\tilde{d} = 40$ nm und dem Radius der Partikel von $R = 60$ nm erhalten wir somit die x -Koordinaten zu $x = \pm(R + \tilde{d}/2) = \pm 50$ nm. Ein von Eins abweichender Brechungsindex des Umgebungsmediums könnte hier dadurch berücksichtigt werden, dass erstens die Wellenlänge im Medium $\lambda = \lambda_0 / \sqrt{\epsilon_{\mathcal{A}}(\lambda_0)}$ spezifiziert wird und zweitens der komplexe Brechungsindex des Partikels $\sqrt{\epsilon_I(\lambda_0)}$ in Einheiten des komplexen Brechungsindex des Mediums $\sqrt{\epsilon_{\mathcal{A}}(\lambda_0)}$ angegeben wird. Ein Beispiel dafür findet sich im Abschnitt über GMM-DIP.

Die dritte Eingabedatei grid.in definiert nun das Gitter, auf dem das Feld berechnet werden soll:

```
101 101 101 = nx, ny, nz
-0.02 -0.02 -0.02 = x0, y0, z0
```

Das Gitter – ein regelmäßiges quaderförmiges Gitter – wird durch Angabe der Gitterschritte in jeder Dimension in der ersten Zeile sowie durch Angabe eines seiner Eckpunkte definiert. Ein Eckpunkt genügt, da das Gitter immer am Koordinatenursprung zentriert ist. Die Einheiten zur Angabe der Koordinaten des Eckpunktes sind die gleichen, die für Wellenlänge und Partikelkoordinaten genutzt werden. Das Gitter hat hier also die Form eines Würfels mit $101 \times 101 \times 101 \approx 10^6$ Punkten und erstreckt sich in jeder Dimension von -20 nm bis $+20$ nm um

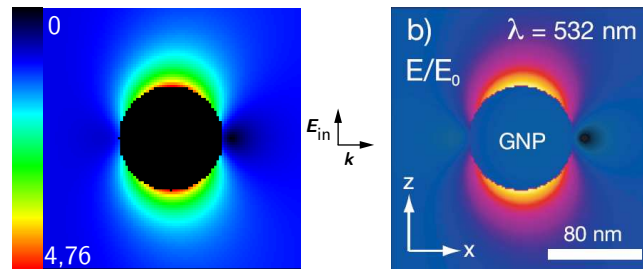


Abbildung B.2: GMM-FIELD, qualitativer Vergleich mit MMP-Rechnungen für ein Einzelpartikel. Von links trifft eine in vertikaler Richtung polarisierte ebene Welle mit $\lambda = 532$ nm auf ein einzelnes Goldpartikel mit $R = 40$ nm im Vakuum. Dargestellt ist die lokale Feldverstärkung, berechnet links mit GMM-FIELD und rechts mit MMP. Die MMP-Daten sind reproduziert aus [168]. Die Ergebnisse stimmen überein, soweit dies aufgrund der verschiedenen verwendeten Farbskalen zu beurteilen ist. Eine Legende zur Farbskala fehlt in [168].

das Zentrum der Farbstoffkugel. Zur Berechnung der mittleren Feld- und Anregungsverstärkung in der Farbstoffkugel wird das folgende kurze awk-Skript aus der Shell aufgerufen:

```
awk 'BEGIN {n=0; inte=0 ; inte2=0};
    $1*$1 + $2*$2 + $3*$3 <= 0.0004 {n++; inte+= $10; inte2+= $10*$10};
    END {print n, inte/n, inte2/n}' field.dat
```

Für jede Zeile der Feld-Ausgabedatei field.dat wird hier geprüft, ob die Quadratsumme der Werte in den ersten drei Spalten, in denen die Koordinaten des Gitterpunktes stehen, kleiner ist als der quadrierte Radius der Kugel. Ist dies der Fall, so liegt der betreffende Gitterpunkt in der Kugel, der Betrag des Feldes an diesem Punkt wird zu inte addiert und sein Quadrat zu inte2. Außerdem wird der Zähler n inkrementiert. Am Ende werden dann die Anzahl der Gitterpunkte in der Farbstoffkugel n, die mittlere Feldverstärkung inte/n und die mittlere Anregungsverstärkung inte2/n ausgegeben.

Vergleich mit veröffentlichten MMP-Rechnungen zur Feldverstärkung an einem Einzelpartikel

Um sicherzustellen, dass GMM-FIELD frei von Fehlern ist, haben wir die von Härtling et al. in [168] veröffentlichten Rechnungen nach der Methode mehrerer Multipole (MMP) für die Feldverstärkung in der Nähe eines einzelnen Goldpartikels mit Hilfe von GMM-FIELD nachgerechnet. Das Partikel hat einen Radius von 40 nm und wird im Vakuum von einer ebenen Welle mit Wellenlänge 532 nm getroffen. Zunächst betrachten wir die Feldverstärkung in der von k und E_{in} aufgespannten Ebene durch den Mittelpunkt des Partikels. In Abb. B.2 zeigt sich gute qualitative Übereinstimmung zwischen GMM-FIELD und MMP. Ein quantitativer Vergleich ist leider nicht möglich, da in der Abbildung aus [168] die Farbskala fehlt.

Wir finden jedoch in Abb. 3 aus [168] einige Graphen der Anregungsverstärkung γ_{exc} , die dort genau wie in Kapitel 5 dieser Arbeit als $|E \cdot \hat{p}|^2 / |E_{in} \cdot \hat{p}|^2$ berechnet wird. Damit können wir

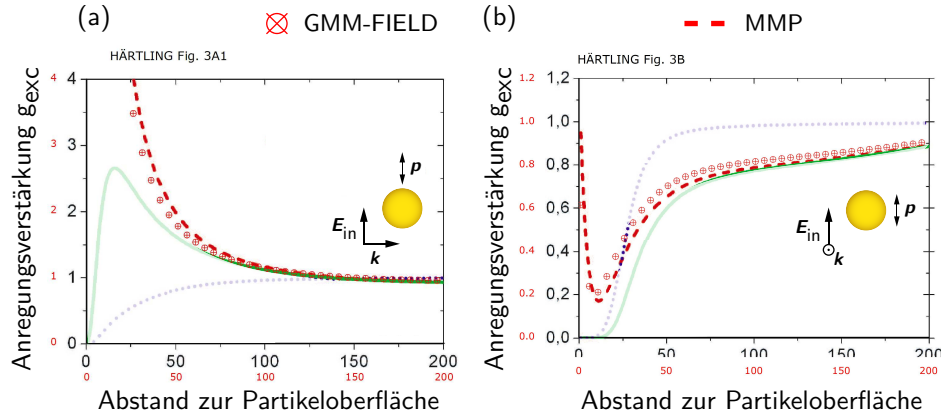


Abbildung B.3: GMM-FIELD, quantitativer Vergleich mit MMP-Rechnungen für ein Einzelpartikel. Anregungsverstärkung $g_{\text{exc}} = |\vec{E} \cdot \vec{p}|^2 / |\vec{E}_{\text{in}} \cdot \vec{p}|^2$ für einen (a) radial bzw. (b) tangential zu einem einzelnen Goldpartikel orientierten Dipol. Partikelradius und Wellenlänge sind die gleichen wie in Abb. B.2. Die Ergebnisse der MMP-Rechnung aus [168] sind rot gestrichelt, die mit GMM-FIELD berechneten Ergebnisse sind als rote Kreise dargestellt. Die violett gepunkteten und die grünen durchgezogenen Kurven sind die Härtingschen Resultate zur Quanteneffizienz bzw. zur Gesamtfluoreszenzverstärkung, sie sind an dieser Stelle nicht weiter von Belang (siehe auch Abb. C.2).

die Übereinstimmung zwischen Härtings MMP-Rechnung und GMM-FIELD auch quantitativ überprüfen. Wir betrachten hier die beiden wichtigsten Fälle eines Dipols, der parallel zum Feldvektor \vec{E}_{in} steht und entweder radial zum Goldpartikel orientiert ist oder tangential. Die Geometrien und die Ergebnisse sind in Abb. B.3 dargestellt. Es zeigt sich auch quantitativ ein hohes Maß an Übereinstimmung. Die geringen Abweichungen sind durch kleine Unterschiede in der verwendeten dielektrischen Funktion, den Diskretisierungsfehler der MMP-Rechnung, sowie Rundungsfehler in den jeweiligen numerischen Rechnungen leicht zu erklären.

C GMM-DIP – verallgemeinerte Mie-Streuung eines Dipolfeldes

GMM und das davon abgeleitete GMM-FIELD verwenden als einfallendes Feld eine ebene Welle. Wenn wie in Kapitel 5 erläutert Emissionsverstärkung und Energietransfer in Nanopartikelaggregaten berechnet werden sollen, muss jedoch als einfallendes Feld das Feld eines oszillierenden Dipols betrachtet werden. Außerdem müssen anstelle der Wirkungsquerschnitte die Faktoren P_{abs}/P_0 und P_r/P_0 berechnet werden. Unter dem Namen GMM-DIP wurde GMM-FIELD von mir entsprechend modifiziert.¹ Der Dipol wird über weite Strecken des Programms wie ein weiteres Partikel behandelt. Aus praktischen Gründen verwendet GMM-DIP an diesen Stellen für den Dipol den Index $\beta = N + 1$ und nicht $\beta = 0$ wie in Kapitel 5. Damit ergibt sich für GMM-DIP der in Abbildung C.1 dargestellte Programmablauf.

Die Änderungen gegenüber GMM-FIELD sind farbig hervorgehoben. Zur Berechnung der Leistungen P_r/P_0 , P_{str}/P_0 und P_{ext}/P_0 kann in großen Teilen der GMM-Code zur Berechnung von σ_{str} und σ_{ext} übernommen werden. In der Routine zur Berechnung des Nahfeldes wird die Initialisierung von E geändert: statt $E = \exp(ikz) \hat{e}_x$ verwenden wir dort jetzt $E = \mathbf{0}$. Das gesamte Feld - also die Summe aus einfallendem und gestreutem Feld - wird dann nach Gl. (5.2.12) berechnet.

Die Koordinaten des Dipols, der zur Modellierung des fluoreszierenden oder ramanstreuenden Moleküls genutzt wird, werden in der Eingabedatei für die Feld- und Aggregatdefinition spezifiziert wie die Koordinaten eines weiteren Partikels. Dabei müssen wie bei der Spezifikation eines Partikels Brechungsindex und Radius angegeben werden. Der Wert des Brechungsindex wird vom Programm nicht verwendet, der Wert des Radius entscheidet darüber, in welchem Bereich um den Dipol das Feld nicht berechnet wird.

Als Beispiel sei hier die Feld- und Aggregatdefinition für einen bei $\lambda = 532$ nm emittierenden Dipol in der Mitte zweier Goldnanopartikel mit $R = 20$ nm und $\tilde{d} = 20$ nm in Wasser angeführt:

```
0.39886 = wavelength (vacuum wavelength: 0.532)
3 = #spheres + 1 (dipole)
0.03 0 0 0.02000 0.417515 1.66004 = x, y, z, r, Re(n), Im(n)
-0.03 0 0 0.02000 0.417515 1.66004 = x, y, z, r, Re(n), Im(n)
0.00 0 0 0.00001 1.000000 0.00000 = x, y, z, (r, Re(n), Im(n)) <- dipole
```

Als Längeneinheit wurden Mikrometer verwendet. Die Position des Dipols am Koordinatenursprung wird in der letzten Zeile festgelegt. Die Dipolorientierung ist immer parallel zur x -Achse, hier also auch entlang der Dimerachse. Das Medium Wasser wird dadurch berücksichtigt, dass erstens die Wellenlänge im Medium $\lambda = \lambda_0 / \sqrt{\epsilon_{\text{H}_2\text{O}}}$ spezifiziert wird und zweitens der komplexe Brechungsindex des Partikels $\sqrt{\epsilon_{\text{Au}}}$ in Einheiten des (rein realen) Brechungsindex des Mediums $\sqrt{\epsilon_{\text{H}_2\text{O}}}$ angegeben wird.

¹Der Quelltext von GMM-DIP sowie einige Anwendungsbeispiele aus dieser Arbeit sind unter http://moritz-ringler.name/dissertation/GMM_DIP.tar.bz2 verfügbar.

C GMM-DIP – verallgemeinerte Mie-Streuung eines Dipolfeldes

Data: $n_{\max}, \lambda, N; \mathbf{r}^\beta, \mathbf{r}^{\text{Dipol}}, R^\beta, \varepsilon_I^\beta$
Result: $\sigma_{\text{str}}, \sigma_{\text{ext}}, \sigma_{\text{abs}}$
begin
 Lese Wellenlänge;
 Lese Aggregatparameter;
 Berechne Mieoeffizienten für alle Sphären ; // Gl. (2.1.11)
 $\beta_{\max} = N + 1$;
 Berechne Vektortranslationskoeffizienten ; // Gl. (2.2.13), (5.2.8)
 // Entwicklung des einfallenden Feldes:
 // Gl. (5.2.3) mit GMM-Konvention für E_{mn}
 $a_{11}^{N+1} = -i/\sqrt{3}$;
 $a_{-11}^{N+1} = i/\sqrt{3}$;
 Berechne Vektortranslation des Dipolfeldes $\rightarrow p_{mn}^{0\beta}, q_{mn}^{0\beta}$; // Gl. (2.2.14)
 $\beta_{\max} = N$;
 Berechne Streukoeffizienten $\rightarrow a_{mn}^\beta, b_{mn}^\beta$; // Gl. (2.2.17)
 $\beta_{\max} = N + 1$;
 // zur Berechnung des Streufeldes allein:
 // $\beta_{\max} = N$
 Berechne und schreibe Nahfeld;
 $\beta_{\max} = N + 1$;
 Berechne $g_r = P_r/P_0$; // Gl. (5.2.13)
 $\beta_{\max} = N$;
 Berechne P_{str}/P_0 ; // Gl. (5.2.8)
 Berechne P_{ext}/P_0 ; // Gl. (5.2.9)
 $g_{\text{ET}} = P_{\text{ext}}/P_0 - P_{\text{str}}/P_0$;
 Schreibe g_r und g_{ET}
end

Abbildung C.1: Programmablauf von GMM-DIP

Vergleich mit veröffentlichten MMP-Rechnungen zur Fluoreszenzlöschung an einem Einzelpartikel

Um sicherzustellen, dass GMM-DIP frei von Fehlern ist, haben wir die von Härtling et al. in [168] veröffentlichten MMP-Ergebnisse für die Fluoreszenzlöschung in der Nähe eines einzelnen Goldpartikels mit Hilfe von GMM-DIP nachgerechnet. Betrachtet wird die Quanteneffizienz eines Dipolstrahlers, der sich in der Nähe eines einzelnen Goldpartikels mit 80 nm Durchmesser befindet, bei $\lambda = 560$ nm emittiert und die intrinsische Quanteneffizienz Eins hat. Die Umgebung hat Brechungsindex Eins. Die Dipol-Quanteneffizienz berechnet sich aus Purcellfaktor und Energietransferfaktor gemäß¹

$$\eta = \frac{g_r}{g_r + g_{\text{ET}}} \quad (\text{C.1})$$

¹In Kapitel 5 haben wir gezeigt, dass dies *nicht* der geeignete Weg ist, um die geänderte Quanteneffizienz eines Mehrniveausystems wie z. B. eines Farbstoffmoleküls zu berechnen. Stattdessen müssen die Gleichungen (5.3.12) und (5.3.8) angewandt werden.

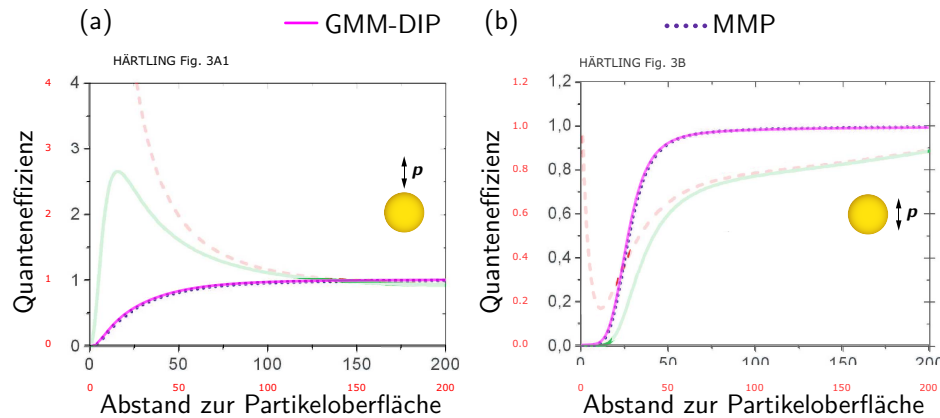


Abbildung C.2: GMM-DIP, quantitativer Vergleich mit MMP-Rechnungen für ein Einzelpartikel. Quanteneffizienz für einen (a) radial bzw. (b) tangential zu einem einzelnen Goldpartikel orientierten Dipol mit intrinsischer Quanteneffizienz Eins. Partikelradius und Wellenlänge sind die gleichen wie in Abb. B.2. Die Ergebnisse der MMP-Rechnung aus [168] sind violett gepunktet, die mit GMM-FIELD berechneten Ergebnisse sind als magentafarbene Linie dargestellt. Die rot gestrichelten und die grünen durchgezogenen Kurven sind die Härtlingschen Resultate zur Anregungsverstärkung bzw. zur Gesamtfluoreszenzverstärkung, sie sind an dieser Stelle nicht weiter von Belang (siehe auch Abb. B.3).

Wir betrachten auch hier wieder die beiden wichtigsten Fälle eines radial bzw. tangential zur Goldoberfläche orientierten Dipols. Die Geometrien und die Ergebnisse sind in Abb. C.2 dargestellt. Die Übereinstimmung ist praktisch perfekt.

Rückkopplung - Vergleich mit Rechnungen zur Fluoreszenzlöschung an einem Einzelpartikel nach dem Gersten-Nitzan-Modell

Als letztes vergleichen wir die mit GMM-DIP für einen Dipol in der Nähe eines Einzelpartikels erzielten Ergebnisse für den Purcellfaktor g_r und den Transferfaktor g_{ET} mit den für die gleiche Anordnung berechneten Raten nach Gersten-Nitzan [82]. Abgesehen davon, dass das Gersten-Nitzan-Modell nicht auf Aggregate angewandt werden kann, unterscheidet es sich von GMM-DIP in zwei wesentlichen Punkten: erstens ist es im Gegensatz zum voll retardierten GMM-DIP ein quasistatisches Modell, zweitens berücksichtigt es im Gegensatz zu GMM-DIP die Anregung des Farbstoffes durch sein eigenes vom Goldpartikel gestreutes Feld, ein Phänomen das wir hier als Rückkopplung bezeichnen wollen. Wir vergleichen an einem Beispiel die mit dem Gersten-Nitzan-Modell und mit GMM-DIP erzielten Ergebnisse. Wir betrachten dazu das Modellsystem aus [20]: einen Dipol mit Emissionswellenlänge $\lambda = 668$ nm in der Nähe eines Goldnanopartikels mit Durchmesser 16 nm in Wasser. Die Gersten-Nitzan-Daten werden mit dem Programm ETCALC¹ berechnet. Variiert wird der Abstand zwischen Partikel und Dipol. Abbildung C.3

¹ETCALC ist meine Portierung und Erweiterung des Mathematica-Skriptes TheoET von Arne Morteau und Eric Dulkeith [203] nach C. Neben dem Gersten-Nitzan-Modell ist auch das Modell von Leung [83] implementiert. In beiden Modellen können im Freie-Elektronen-Anteil der dielektrischen Funktion nichtlokale Wechselwirkungen berücksichtigt werden. In ETCALC stehen dafür das hydrodynamische Modell aus [83] und [204] und das Lindhard-

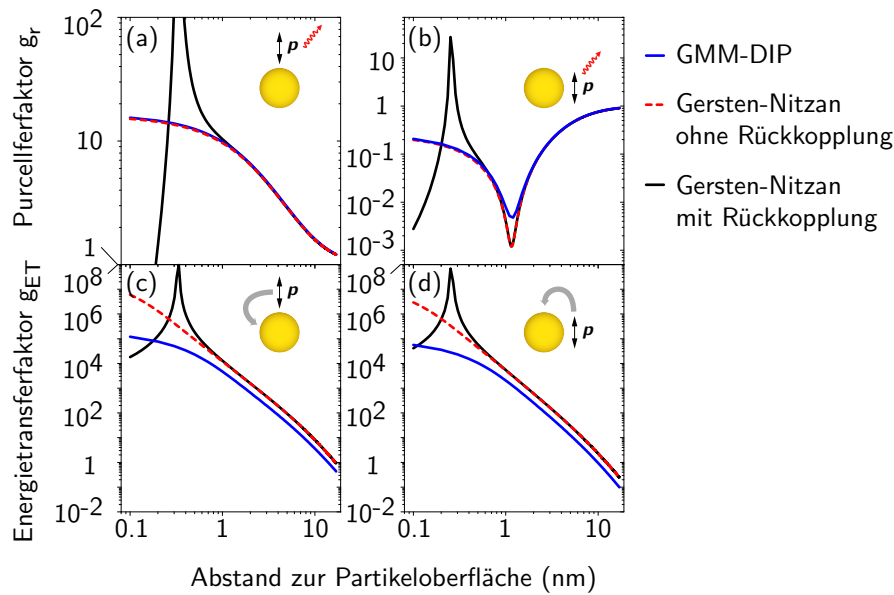


Abbildung C.3: GMM-DIP, quantitativer Vergleich mit Gersten-Nitzan-Rechnungen für ein Einzelpartikel. Purcellfaktor (a,b) und Energietransferfaktor (c,d) für einen monochromatischen Dipol in der Nähe eines einzelnen Goldnanopartikels berechnet mit GMM-DIP, dem Gersten-Nitzan-Modell inklusive Rückkopplung und dem Gersten-Nitzan-Modell ohne Rückkopplung. (a) und (c) Radiale Orientierung. (b) und (d) Tangentiale Orientierung.

zeigt Purcellfaktor und Energietransferfaktor für radiale und tangential Dipolorientierung in doppeltlogarithmischer Auftragung.

Betrachten wir zunächst den Einfluss der Rückkopplung. Offensichtlich wirkt sich diese erst bei Abständen von weniger als 1 nm aus, groß wird die Abweichung erst für Abstände von weniger als ca. 0,5 nm. Bei diesen Abständen können aber auch nichtlokale Wechselwirkungen [83] und Ladungstransfer [206] nicht mehr ohne weiteres vernachlässigt werden. Gleichzeitig bewegt sich bei 0,5 nm der Abstand zwischen Partikel und Farbstoff auf der typischen Größenskala eines Farbstoffmoleküls. Einen Farbstoff hier noch mit einem Punktdipol zu modellieren, ist nur bedingt sinnvoll. Daher ist die Genauigkeit sowohl der Mie-theoretischen wie auch der Gersten-Nitzan-Vorhersage hinsichtlich der Änderung der Raten in diesem Abstandsbereich ohnehin begrenzt. Stattdessen sollte eine quantenmechanische Behandlung zumindest des Moleküls gewählt werden. Dies lässt sich in der Regel dann allerdings nur noch mit rein numerischen Methoden bewerkstelligen [84].

Wir vergleichen nun GMM-DIP und Gersten-Nitzan ohne Rückkopplung. GMM-DIP und Gersten-Nitzan ohne Rückkopplung stimmen im Purcellfaktor (Abb. C.3a und b) nahezu perfekt überein. Lediglich die Emissionsunterdrückung bei tangentialer Orientierung und Abständen um

Mermin-Modell [205] zur Auswahl. Der Gersten-Nitzan-Teil von ETCALC ist ausgiebig gegen TheoET getestet worden und mit diesem äquivalent (wenn auch schneller und komfortabler in der Benutzung). Der Quelltext von ETCALC ist unter <http://moritz-ringler.name/dissertation/ETCALC.tar.bz2> verfügbar. Die Rückkopplung kann mittels des Compile-Time-Parameters GN_FEEDBACK in der Quelldatei etcalc.h einfach aus- und eingeschaltet werden.

1 nm ist im Gersten-Nitzan-Modell ausgeprägter. Der absolute Unterschied zwischen GMM-DIP und dem Gersten-Nitzan-Modell ist allerdings gering und kann numerische Ursachen haben oder auf die leicht unterschiedliche verwendete dielektrische Funktion zurückgehen.

Der vom Gersten-Nitzan-Modell vorhergesagte Energietransferfaktor liegt für Abstände größer als 1 nm etwa einen konstanten Faktor zwei über dem mit GMM-DIP miethoretisch berechneten (Abb. C.3c und d). Da sich auch bei anderen Wellenlängen stets ein Faktor von ungefähr zwei zwischen GMM-DIP und Gersten-Nitzan ergibt (hier nicht gezeigt), stimmen beide Modelle zumindest qualitativ überein. Der Energietransferfaktor wird in GMM-DIP und Gersten-Nitzan sehr unterschiedlich berechnet: während bei Gersten-Nitzan die Joulesche Dämpfung des Feldes über das Volumen des Nanopartikels integriert wird, berechnet GMM-DIP die absorbierte Leistung aus dem Integral des Poynting-Vektors im Fernfeld. Allerdings sollten im Prinzip beide Methoden zum gleichen Ergebnis führen. GMM-DIP stimmt jedenfalls mit den unabhängigen MMP-Rechnungen aus [168] überein, wie wir in Abb. C.2 gesehen haben, in die sowohl Purcellfaktor g_r als auch Energietransferfaktor g_{ET} eingehen. Daher ist die Ursache der Abweichung wohl eher im Gersten-Nitzan-Modell oder in dessen Implementierung zu suchen als in GMM-DIP. Für Abstände kleiner als circa 0,5 nm wird die Abweichung zwischen Gersten-Nitzan-Modell und GMM-DIP größer. Dies mag daran liegen, dass bei so kleinen Abständen der Farbstoff-Dipol auch höhere Multipole des Nanopartikels anregen kann, die im Gersten-Nitzan-Modell vernachlässigt werden. Die GMM-DIP-Ergebnisse stimmen hier etwas besser mit den experimentellen Ergebnissen aus [20] überein.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Übereinstimmung zwischen der in GMM-DIP implementierten miethoretischen Beschreibung und der Gersten-Nitzan-Beschreibung ohne Rückkopplung insgesamt gut ist. Für den Energietransferfaktor gilt das qualitativ, da das Gersten-Nitzan-Modell ihn für einen Abstand von mehr als 1 nm um einen in etwa konstanten Faktor zwei größer vorhersagt. Bei Abständen kleiner als 1 nm wird die Abweichung größer. Hinsichtlich des Purcellfaktors stimmen verallgemeinerte Mie-Theorie und Gersten-Nitzan-Modell ohne Rückkopplung für alle Abstände quantitativ überein.

Danksagung

Die vorliegende Dissertation entstand zwischen Oktober 2003 und März 2008 am Lehrstuhl für Photonik und Optoelektronik der Ludwig-Maximilians-Universität in München. Den vielen Menschen, die mich in dieser Zeit unterstützt haben, möchte ich an dieser Stelle herzlich danken: Meinem Doktorvater Professor Jochen Feldmann und seinem ehemaligen Assistenten Professor Thomas Klar, die zusammen meine Dissertation betreut und ihr mit ihren Ideen wichtige Impulse gegeben haben. Johanna, Peter, meinen Eltern Illo und Siegfried, und Werner. Den beiden hervorragenden Diplomanden Thomas Soller und Alexander Schwemer, die betreuen zu dürfen ich das Glück hatte. Alex hat in seiner Zeit als Diplomand wie in seiner Zeit als studentische Hilfskraft wesentlich bei der Durchführung der in dieser Dissertationsschrift veröffentlichten Experimente mitgewirkt. Gunnar Raschke und Professor Richard Phillips. Dr. Alfons Nichtl und Dr. Kürzinger, Dr. Yvonne Markert und Dr. Michael Wunderlich, Dr. Heindl und Dr. Josel von Roche Diagnostics, deren gesammelte Kompetenz in Sachen Proteine, Goldkonjugate, Nukleinsäuren und Farbstoffe ich in Anspruch nehmen durfte und mit denen zusammenzuarbeiten stets eine Freude war. Dr. Andrey Rogach und Dr. Andrei Sussha. Meinen Büro-Mitbewohnern Calin Hrelescu, Srujan Dondapati, Roland Dietmüller, Daniel Soujon, Klaus Becker, Clemens Hofmann und Robert Kraus. Meinen WG-Mitbewohnern Dani, Matthias, Tina, Tom, Ceci und Susa. Professor Wolfgang Parak und Professor John Lupton. Frau Adam, Frau Beier, Werner Stadler, Stefan Niedermaier, Christian Holopirek, Herrn Bochner, Anna Helfrich und Frau Vrankovic, sowie dem netten Nachtwächter unbekannten Namens, der mich zu später Stunde oft mit ein paar freundlichen Worten beglückt hat. Stephan und Cécile. Hans-Werner und Erika. Rolf, Sigrid und Andi. Susan. Meinen Freunden in München, Traunstein, Bonn, Hamburg, Luxemburg, Paris, London und andernorts. Meinen Kolleginnen und Kollegen. Meinen studentischen Forscherlehrlingen Stefan Funk und Martin Borowski. Dr. Martin Schlapschy, der mir half, die Elektrophorese-Erfahrung aus der Zivi-Zeit aufzufrischen. Eva-Maria Natzer, Evelyn Morgenroth, Barbara Pinto und Marie-Christine Blüm. Den Ärztinnen und Ärzten, Krankenschwestern und Pflegern, die mein in Mauterndorf gebrochenes Sprunggelenk geheilt haben. Und nicht zuletzt Yu-lin Xu, der mit seinen Arbeiten zur verallgemeinerten Mie-Theorie die Grundlage für den theoretischen Teil dieser Dissertation geschaffen und durch die Entwicklung und Offenlegung des Quelltextes von GMM die in ihr enthaltenen Rechnungen ermöglicht hat.

Ich danke der Studienstiftung des Deutschen Volkes und der Siemens Unternehmensberatung für die mir während des Studiums gewährten Stipendien. Für finanzielle Unterstützung und Förderung dieser Doktorarbeit danke ich der Bayerischen Forschungstiftung und der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Symbolverzeichnis

Zahlenwerte für physikalische Konstanten nach CODATA [207].

$\ v\ $	Vektornorm des Vektors v , Seite 18
α_E	Polarisierbarkeit, Seite 22
a_{mn}	Koeffizienten der Entwicklung von E_{str} in sphärischen Vektorwellenfunktionen; Streukoeffizient, Seite 19
α_R	Ramantensor, Seite 42
A	Gelstärke, Gewichtsanteil Agarose, Seite 57
$\mathfrak{A}_{mn}^{\tilde{m}\tilde{n}}$	Vektortranslationskoeffizient, Entwicklung von $M_{\tilde{m}\tilde{n}}^1$ und $N_{\tilde{m}\tilde{n}}^1$ bezüglich M_{mn}^3 und N_{mn}^3 , Seite 27
$\tilde{A}_{mn}^{\tilde{m}\tilde{n}}$	Vektortranslationskoeffizient, Entwicklung von $E_{\tilde{m}\tilde{n}} M_{\tilde{m}\tilde{n}}^3$ und $E_{\tilde{m}\tilde{n}} N_{\tilde{m}\tilde{n}}^3$ bezüglich $E_{mn} M_{mn}^3$ und $E_{mn} N_{mn}^3$, Seite 79
$A_{mn}^{\tilde{m}\tilde{n}}$	Vektortranslationskoeffizient, Entwicklung von $E_{\tilde{m}\tilde{n}} M_{\tilde{m}\tilde{n}}^{1\gamma}$ und $E_{\tilde{m}\tilde{n}} N_{\tilde{m}\tilde{n}}^1$ bezüglich $E_{mn} M_{mn}^3$ und $E_{mn} N_{mn}^3$, Seite 27
b_{mn}	Koeffizienten der Entwicklung von E_{str} in sphärischen Vektorwellenfunktionen; Streukoeffizient, Seite 19
$\mathfrak{B}_{mn}^{\tilde{m}\tilde{n}}$	Vektortranslationskoeffizient, Entwicklung von $M_{\tilde{m}\tilde{n}}^1$ und $N_{\tilde{m}\tilde{n}}^1$ bezüglich M_{mn}^3 und N_{mn}^3 , Seite 27
$\tilde{B}_{mn}^{\tilde{m}\tilde{n}}$	Vektortranslationskoeffizient, Entwicklung von $E_{\tilde{m}\tilde{n}} M_{\tilde{m}\tilde{n}}^3$ und $E_{\tilde{m}\tilde{n}} N_{\tilde{m}\tilde{n}}^3$ bezüglich $E_{mn} M_{mn}^3$ und $E_{mn} N_{mn}^3$, Seite 79
$B_{mn}^{\tilde{m}\tilde{n}}$	Vektortranslationskoeffizient, Entwicklung von $E_{\tilde{m}\tilde{n}} M_{\tilde{m}\tilde{n}}^1$ und $E_{\tilde{m}\tilde{n}} N_{\tilde{m}\tilde{n}}^1$ bezüglich $E_{mn} M_{mn}^3$ und $E_{mn} N_{mn}^3$, Seite 27
c_{mn}	Koeffizienten der Entwicklung von E_I in sphärischen Vektorwellenfunktionen, Seite 19
c_{mol}	molare Konzentration, Seite 50
c	Lichtgeschwindigkeit im Vakuum, 299792458 m/s, Seite 17

d	Abstand der Mittelpunkte zweier Nanopartikel, Seite 23
\tilde{d}	Oberflächenabstand $\tilde{d} = d - 2R$ zweier Nanopartikel, Seite 32
d_{mn}	Koeffizienten der Entwicklung von E_I in sphärischen Vektorwellenfunktionen, Seite 19
η	Quanteneffizienz eines Fluoreszenzfarbstoffes, Seite 39
$\tilde{\eta}$	Viskosität, Seite 55
e	Elementarladung, $1,60217653(14) \times 10^{-19}$ C, Seite 50
ϵ_0	Permittivität des Vakuums, $\mu_0^{-1} c^{-2}$, Seite 17
η_0	intrinsische Quanteneffizienz, Seite 82
ϵ	relative Permittivität, dielektrische Funktion, Seite 17
$\epsilon_{\mathcal{A}}$	dielektrische Funktion außerhalb der Partikel, Seite 19
ϵ_I	dielektrische Funktion im Inneren eines Nanopartikels, Seite 17
\hat{e}_ϕ	Azimutaler Einheitsvektor, Seite 18
\hat{e}_r	Radialer Einheitsvektor, Seite 18
\hat{e}_θ	Polarer Einheitsvektor, Seite 18
E_0	Amplitude des einfallenden Feldes, Seite 19
E	(Gesamtes) elektrisches Feld, Seite 16
E_I	Elektrisches Feld im Inneren eines Nanopartikels, Seite 18
E_{in}	Einfallendes elektrisches Feld, Seite 16
E_{mn}	Normierungskoeffizienten in der Entwicklung des elektrischen Feldes in sphärischen Vektorwellenfunktionen, Seite 19
E_{str}	Gestreutes elektrisches Feld, Seite 18
ϕ	Phase eines Feldes bezogen auf das entsprechende einfallende Feld, Seite 37
φ	Kugelkoordinaten: Azimut, Seite 18
f_0	Integral-normiertes intrinsisches Fluoreszenzspektrum, Seite 82
F	Kraft, Seite 55
F	Fluoreszenzspektrum, Seite 81

F_0	intrinsisches Fluoreszenzspektrum, Seite 81
F_{ges}	Gesamtfluoreszenzrate eines Farbstoffes für gegebene Anregungsintensität und -frequenz, Seite 39
g	Gesamtfluoreszenzverstärkung, Seite 81
g_{em}	Emissionsverstärkung, Seite 81
γ_{ET}	Energietransferrate eines Fluoreszenzfarbstoffes, Seite 82
g_{ET}	Energietransferfaktor, Seite 82
g_{exc}	Anregungsverstärkungsfaktor, Seite 76
γ_{exc}	Anregungsrate eines Fluoreszenzfarbstoffes, Seite 39
γ_{ges}	Gesamtrate eines Fluoreszenzfarbstoffes, Seite 83
$\gamma_{\text{nr}0}$	intrinsische nichtstrahlende Rate eines Fluoreszenzfarbstoffes, Seite 82
γ_{nr}	nichtstrahlende Rate eines Fluoreszenzfarbstoffes, Seite 39
g_{r}	Purcellfaktor, Seite 82
$\gamma_{\text{r}0}$	intrinsische strahlende Rate eines Fluoreszenzfarbstoffes, Seite 82
γ_{r}	strahlende Rate eines Fluoreszenzfarbstoffes, Seite 39
Γ	Dämpfung eines Drudemetalles, Seite 23
Γ_0	intrinsische strahlende Rate im Zwei-Niveau-System, Seite 81
Γ_{ET}	Energietransferrate im Zwei-Niveau-System, Seite 80
Γ_{r}	strahlende Rate im Zwei-Niveau-System, Seite 80
h_n^i	Sphärische Hankelfunktionen, Seite 18
H	(Gesamtes) magnetisches Feld, Seite 17
H_I	Magnetfeld im Inneren eines Nanopartikels, Seite 18
H_{in}	Einfallendes Magnetfeld, Seite 18
\hbar	$\hbar = h/(2\pi)$, Seite 24
H_{str}	Gestreutes Magnetfeld, Seite 18
h	Planck-Konstante, $6,62606896(33) \times 10^{34}$ J s, Seite 60

\mathfrak{I}	Ionenstärke einer Lösung, Seite 50
j_n	Sphärische Besselfunktionen der ersten Art, Seite 18
κ	Debye-Hückelsche Abschirmlänge, Seite 50
k_B	Boltzmannkonstante, $1,3806505(24) \times 10^{-23} \text{ J K}^{-1}$, Seite 50
k	Wellenzahl des Lichtfeldes im Medium, Seite 17
ℓ	Länge des Lichtwegs durch eine absorbierende Probe, Seite 54
λ_{dB}	de-Broglie-Wellenlänge, Seite 60
λ_E	Resonanzwellenlänge des Einzelpartikelplasmons, Seite 32
λ_{\max}	Wellenlänge maximalen Streuquerschnitts., Seite 32
m_e	Elektronenmasse, $9,10938215(45) \times 10^{-31} \text{ kg}$, Seite 60
μ_{el}	elektrophoretische Beweglichkeit, Seite 55
μ	relative magnetische Permeabilität, Seite 17
μ_0	magnetische Permeabilität des Vakuums, $4\pi \times 10^{-7} \text{ N A}^{-2}$, Seite 17
M_{mn}^j	Sphärische Vektorwellenfunktionen, Seite 18
ν	Verhältnis der Brechungsindices von Partikel und Medium, Seite 20
N_A	Avogadrozahl, $6,0221415(10) \times 10^{23} \text{ mol}^{-1}$, Seite 50
N_{mn}^j	Sphärische Vektorwellenfunktionen, Seite 18
NA	Numerische Apertur, Seite 62
ω	Kreisfrequenz eines Lichtfeldes, Seite 17
ω_{exc}	Anregungsfrequenz, Seite 39
ω_p	Plasmafrequenz eines Drudemetalles, Seite 23
OD	Optische Dichte, Seite 54
\bar{p}	Porengröße eines Gels, Seite 57
p_i	statischer Dipol eines Nanopartikels, Seite 22
pI	isoelektrischer Punkt eines Proteins oder kolloidalen Partikels, Seite 45
p_{mn}	Koeffizienten der Entwicklung von E_{in} in sphärischen Vektorwellenfunktionen, Seite 19

π_{mn}	$\pi_{mn}(\cos \theta) = \frac{m}{\sin \theta} P_n^m(\cos \theta)$, Seite 19
Π	Permeabilität eines Lösungsmittels, Seite 50
P_{abs}	Vom Aggregat absorbierte Leistung, Seite 76
P_{ext}	Vom Aggregat gestreute und absorbierte Leistung, Seite 78
P_n^m	Assoziierte Legendrefunktion der ersten Art, Seite 18
P_r	Abgestrahlte Leistung (Fernfeld), Seite 76
P_{str}	Vom Aggregat gestreute Leistung, Seite 78
q	Impulsübertrag bei Lichtstreuung, Seite 55
q_{mn}	Koeffizienten der Entwicklung von E_{in} in sphärischen Vektorwellenfunktionen, Seite 19
Q	(Effektive) Ladung eines Partikels, Seite 55
Q	Gütefaktor eines Resonators, Seite 41
ρ	Größenparameter $k_{\mathcal{A}} R$, Seite 20
ϱ_{Reso}	Modendichte des elektromagnetischen Feldes im Resonator, Seite 41
\mathbf{r}	Ortsvektor, Seite 18
r	Kugelkoordinaten: radiale Koordinate, Seite 18
R	Radius eines Nanopartikels, Seite 18
R_H	hydrodynamischer Radius eines kolloidalen Partikels, Seite 49
σ_{abs}	Absorptionsquerschnitt, Seite 17
σ_{ext}	Extinktionsquerschnitt, Seite 21
σ_{str}	Streuquerschnitt, Seite 16
S_0	elektronischer Grundzustand eines Moleküls, Seite 38
S_1	angeregter Zustand eines Moleküls, Seite 38
S_{in}	einfallende Lichtintensität $\ S_{\text{in}}\ $, Seite 21
θ	Kugelkoordinaten: Polarwinkel, Seite 18
τ_{mn}	$\tau_{mn}(\cos \theta) = \frac{d}{d\theta} P_n^m(\cos \theta)$, Seite 19
\mathcal{T}	Transmissionsgrad, Seite 54

T	Temperatur, Seite 50
v	Geschwindigkeit, Seite 55
y_n	Sphärische Besselfunktionen der zweiten Art, Seite 18
ζ	Zetapotential kolloidaler Partikel, Seite 50
z_n^j	Sphärische Bessel- und Hankelfunktionen, Seite 18
Z	Ladungszahl, Seite 50

Abbildungsverzeichnis

2.1	Partikelplasmon eines einzelnen Goldnanopartikels	15
2.2	Kopplung zweier Nanopartikelplasmonen	23
2.3	Gekoppelte Plasmonresonanzen eines Drudedimers in Abhängigkeit vom Partikelabstand, quasistatische Dipolnäherung	24
2.4	Komplexer Brechungsindex von Gold	30
2.5	Elastische Lichtstreuung an einem Goldnanopartikel-Dimer in Abhängigkeit von Partikelabstand und Polarisierung	31
2.6	Entstehung des elektromagnetischen Heißpunkts im Partikelzwischenraum eines Dimers	33
2.7	Lokales elektrisches Feld in der Nähe eines Nanopartikeldimers (Betrag)	34
2.8	Lokales elektrisches Feld in der Nähe eines Nanopartikeldimers (Realteil)	35
2.9	Lokales elektrisches Feld in der Nähe eines Nanopartikeldimers (Imaginärteil)	36
2.10	Elektrisches Feld im Partikelzwischenraum eines Goldnanopartikel-Dimers in Abhängigkeit vom Partikelabstand	37
2.11	Protein-Struktur von Streptavidin mit gebundenem Biotin.	45
2.12	Biotin und Biotin X-OSu	46
2.13	Wechselwirkungen, die zur Bindung von Proteinen auf Gold beitragen.	48
2.14	Ionenschichten um ein kolloidales Partikel, Zetapotential.	49
2.15	pH-Abhängigkeit des Zetapotentials, isoelektrischer Punkt.	50
3.1	Varian Cary-50 Spektrophotometer.	54
3.2	Prinzipskizze der Phasenanalysen-Lichtstreuung (PALS, Zetasizer).	55
3.3	Agarose-Gele.	56
3.4	Apparat zur submarinen Gelelektrophorese.	57
3.5	Schema der Gelextraktion mittels Elektroelution.	59
3.6	Transmissionselektronenmikroskop	61
3.7	Dunkelfeldmikroskop und Streuspektroskopie	62
3.8	Fluoreszenz- und Ramanspektroskopie am Dunkelfeldmikroskop	64
4.1	Biotin-Streptavidin-verknüpftes Nanopartikeldimer	67
4.2	Extinktion von biotinierten Nanopartikeln nach Streptavidinzugabe	68
4.3	Modell der Streptavidin-vermittelten Aggregation biotinierter Nanopartikel	69

4.4	Elektronenmikroskopische und lichtmikroskopische Charakterisierung der nicht aufgereinigten Probe mit Streptavidin-Biotin-vermittelten Aggregaten	70
4.5	Isolierung der Dimere per Gelelektrophorese	72
4.6	Mit dem Elektronenmikroskop gemessene Abstandsverteilung der Dimere . . .	73
5.1	Polarisationsabhängige Fluoreszenzverstärkung im mit dem Rasterkraftmikroskop zusammengesetzten Nanopartikeldimer	86
5.2	Feldverstärkung im Nanopartikel-Sandwich	87
6.1	Dimerresonator und Fluoreszenzfarbstoff	92
6.2	Elastische Lichtstreuung an Goldnanopartikeldimeren	92
6.3	Fluoreszenz von Cy3 in Goldnanopartikeldimer-Resonatoren	94
6.4	Berechnete Streuspektren zu den Nanopartikeldimeren aus Abb. 6.3	95
6.5	Anregungsverstärkung zu den Nanopartikeldimeren aus Abb. 6.3	96
6.6	Wellenlängenabhängige Emissionsverstärkung zu den Nanopartikeldimeren aus Abb. 6.3	97
6.7	Theoretisches Fluoreszenzspektrum für Cy3 in den Nanopartikeldimeren aus Abb. 6.3	99
6.8	Purcell-Effekt und Fluoreszenzverstärkung in Nanopartikeldimer-Resonatoren. Experimentelle und numerische Ergebnisse im Vergleich	101
6.9	Änderung der strahlenden Übergangswahrscheinlichkeiten im Dimerresonator durch den Purcell-Effekt.	103
7.1	Polarisationsabhängigkeit der Ramanstreuintensität in Nanopartikeldimeren . .	106
7.2	Fluktuierendes Ramanspektrum von Proteinen in einem Nanopartikeldimer . . .	107
7.3	Verstimmung der Nanoresonatoren nach Detektion eines Ramansignals	108
7.4	Unverstimmte Nanoresonatoren nach Laserexposition bei Abwesenheit eines Ramansignals	109
7.5	Verschiebungen der longitudinalen Resonanzen aller Nanopartikeldimere	110
7.6	Erwärmung des Nanopartikelresonators	112
A.1	Programmablauf von GMM	116
B.1	Feldberechnungsroutine in GMM-FIELD	118
B.2	GMM-FIELD, qualitativer Vergleich mit MMP-Rechnungen für ein Einzelpartikel	120
B.3	GMM-FIELD, quantitativer Vergleich mit MMP-Rechnungen für ein Einzelpartikel	121
C.1	Programmablauf von GMM-DIP	123
C.2	GMM-DIP, Vergleich mit MMP-Rechnungen für ein Einzelpartikel	124
C.3	GMM-DIP, Vergleich mit Gersten-Nitzan-Rechnungen für ein Einzelpartikel . . .	125

Tabellenverzeichnis

2.1	Eigenschaften von Streptavidin.	45
2.2	Eigenschaften von Rinderserumalbumin.	47

Literaturverzeichnis

- [1] M. Moskovits. Surface-enhanced Raman spectroscopy: a brief retrospective. *J. Raman Spectrosc.* **36**, 485 (2005). [→ Seiten 11, 33 und 43]
- [2] L. Lorenz. Lysbevaegelsen i og uden for en af plane Lysbolger belyst Kugle. *Det Kongelige Danske Videnskabernes Selskabs Skrifter* **6**(1), 1 (1890). [→ Seiten 11 und 18]
- [3] G. Mie. Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Metallösungen. *Annalen der Physik* **25**(3), 377 (1908). [→ Seiten 11 und 18]
- [4] H. Siedentopf und R. Zsigmondy. Über Sichtbarmachung und Größenbestimmung ultramikroskopischer Teilchen, mit besonderer Anwendung auf Goldrubingläser. *Annalen der Physik* **10**, 1 (1903). [→ Seiten 11, 16 und 61]
- [5] T. Klar, M. Perner, S. Grosse, G. von Plessen, W. Spirkl und J. Feldmann. Surface-Plasmon Resonances in Single Metallic Nanoparticles. *Phys. Rev. Lett.* **80**(19), 4249 (1998). [→ Seiten 12 und 16]
- [6] M. Perner, P. Bost, U. Lemmer, G. von Plessen, J. Feldmann, U. Becker, M. Mennig, M. Schmitt und H. Schmidt. Optically Induced Damping of the Surface Plasmon Resonance in Gold Colloids. *Phys. Rev. Lett.* **78**(11), 2192 (1997). [→ Seite 12]
- [7] G. V. Hartland. Measurements of the material properties of metal nanoparticles by time-resolved spectroscopy. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **6**(23), 5263 (2004). [→ Seite 12]
- [8] J. Müller, C. Sönnichsen, H. von Poschinger, G. von Plessen, T. A. Klar und J. Feldmann. Electrically controlled light scattering with single metal nanoparticles. *Appl. Phys. Lett.* **81**(1), 171 (2002). [→ Seite 12]
- [9] P. Mulvaney. Surface Plasmon Spectroscopy of Nanosized Metal Particles. *Langmuir* **12**(3), 788 (1996). [→ Seite 12]
- [10] S. Berciaud, L. Cognet, P. Tamarat und B. Lounis. Observation of Intrinsic Size Effects in the Optical Response of Individual Gold Nanoparticles. *Nano Lett.* **5**(3), 515 (2005). [→ Seite 12]
- [11] E. Dulkeith, T. Niedereichholz, T. A. Klar, J. Feldmann, G. von Plessen, D. I. Gittins, K. S. Mayya und F. Caruso. Plasmon emission in photoexcited gold nanoparticles. *Phys. Rev. B* **70**(15(II)), 205424 (2004). [→ Seite 12]

- [12] M. Lippitz, M. A. van Dijk und M. Orrit. Third-Harmonic Generation from Single Gold Nanoparticles. *Nano Lett.* **5**(4), 799 (2005). [→ Seite 12]
- [13] E. Dulkeith, A. C. Morteani, T. Niedereichholz, T. A. Klar, J. Feldmann, S. A. Levi, F. C. J. M. van Veggel, D. N. Reinhoudt, M. Möller und D. I. Gittins. Fluorescence Quenching of Dye Molecules near Gold Nanoparticles: Radiative and Nonradiative Effects. *Phys. Rev. Lett.* **89**, 203002 (2002). [→ Seiten 12, 40, 83 und 85]
- [14] C. Fan, S. Wang, J. W. Hong, G. C. Bazan, K. W. Plaxco und A. J. Heeger. Beyond superquenching: Hyper-efficient energy transfer from conjugated polymers to gold nanoparticles. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **100**(11), 6297 (2003). [→ Seite 12]
- [15] S. K. Ghosh, A. Pal, S. Kundu, S. Nath und T. Pal. Fluorescence quenching of 1-methylaminopyrene near gold nanoparticles: size regime dependence of the small metallic particles. *Chem. Phys. Lett.* **395**(4-6), 366 (2004). [→ Seite 12]
- [16] H. Imahori, Y. Kashiwagi, Y. Endo, T. Hanada, Y. Nishimura, I. Yamazaki, Y. Araki, O. Ito und S. Fukuzumi. Structure and Photophysical Properties of Porphyrin-Modified Metal Nanoclusters with Different Chain Lengths. *Langmuir* **20**(1), 73 (2004). [→ Seite 12]
- [17] Z. Gueroui und A. Libchaber. Single-Molecule Measurements of Gold-Quenched Quantum Dots. *Phys. Rev. Lett.* **93**(16), 166108 (2004). [→ Seiten 12 und 85]
- [18] K. Aslan und V. H. Pérez-Luna. Quenched Emission of Fluorescence by Ligand Functionalized Gold Nanoparticles. *Journal of Fluorescence* **14**(4), 401 (2004). [→ Seite 12]
- [19] P. C. Raya, A. Fortnera, J. Griffina, C. K. Kimb, J. P. Singhb und H. Yua. Laser-induced fluorescence quenching of tagged oligonucleotide probes by gold nanoparticles. *Chem. Phys. Lett.* **414**(4-6), 259 (2005). [→ Seite 12]
- [20] E. Dulkeith, M. Ringler, T. A. Klar, J. Feldmann, A. Muñoz Javier und W. J. Parak. Gold Nanoparticles Quench Fluorescence by Phase Induced Radiative Rate Suppression. *Nano Lett.* **5**(4), 585 (2005). [→ Seiten 12, 16, 40, 83, 85, 124 und 126]
- [21] T. L. Jennings, M. P. Singh und G. F. Strouse. Fluorescent Lifetime Quenching near $d = 1.5$ nm Gold Nanoparticles: Probing NSET Validity. *J. Am. Chem. Soc.* **128**(16), 5462 (2006). [→ Seiten 12, 40 und 83]
- [22] T. Soller, M. Ringler, M. Wunderlich, T. A. Klar, J. Feldmann, H.-P. Josel, Y. Markert, A. Nichtl und K. Kürzinger. Radiative and Nonradiative Rates of Phosphors Attached to Gold Nanoparticles. *Nano Lett.* **7**(7), 1941 (2007). [→ Seiten 12, 40, 83 und 85]
- [23] P. Anger, P. Bharadwaj und L. Novotny. Enhancement and Quenching of Single-Molecule Fluorescence. *Phys. Rev. Lett.* **96**(11), 113002 (2006). [→ Seiten 12, 16, 40, 83, 85 und 100]

- [24] S. Kuhn, U. Hkanson, L. Rogobete und V. Sandoghdar. Enhancement of Single-Molecule Fluorescence Using a Gold Nanoparticle as an Optical Nanoantenna. *Phys. Rev. Lett.* **97**(1), 017402 (2006). [→ Seiten 12, 16, 40, 83 und 100]
- [25] A. M. Glass, P. F. Liao, J. G. Bergman und D. H. Olson. Interaction of metal particles with adsorbed dye molecules: absorption and luminescence. *Opt. Lett.* **5**(9), 368 (1980). [→ Seiten 12 und 40]
- [26] A. Wokaun, H.-P. Lutz, A. P. King, U. P. Wild und R. R. Ernst. Energy transfer in surface enhanced luminescence. *J. Chem. Phys.* **79**(1), 509 (1983). [→ Seiten 12 und 85]
- [27] J. Kümmerlen, A. Leitner, H. Brunner, F. R. Aussenegg und A. Wokaun. Enhanced dye fluorescence over silver island films: analysis of the distance dependence. *Mol. Phys.* **80**(5), 1031 (1993). [→ Seiten 12 und 85]
- [28] K. Sokolov, G. Chumanov und T. M. Cotton. Enhancement of Molecular Fluorescence near the Surface of Colloidal Metal Films. *Anal. Chem.* **70**(18), 3898 (1998). [→ Seiten 12 und 85]
- [29] O. Kulakovich, N. Strekal, A. Yaroshevich, S. Maskevich, S. Gaponenko, I. Nabiev, U. Woggon und M. Artemyev. Enhanced Luminescence of CdSe Quantum Dots on Gold Colloids. *Nano Lett.* **2**(12), 1449 (2002). [→ Seite 12]
- [30] J. Malicka, I. Gryczynski, Z. Gryczynski und J. R. Lakowicz. Effects of fluorophore-to-silver distance on the emission of cyanine-dye-labeled oligonucleotides. *Anal. Biochem.* **315**(1), 57 (2003). [→ Seite 12]
- [31] C. D. Geddes, A. Parfenov, D. Roll, I. Gryczynski, J. Malicka und J. R. Lakowicz. Silver Fractal-like Structures for Metal-Enhanced Fluorescence: Enhanced Fluorescence Intensities and Increased Probe Photostabilities. *J. Fluorescence* **13**(3), 297 (2003). [→ Seite 12]
- [32] J. Lukomska, J. Malicka, I. Gryczynski und J. R. Lakowicz. Fluorescence Enhancements on Silver Colloid Coated Surfaces. *J. Fluorescence* **14**(4), 417 (2004). [→ Seite 12]
- [33] M. A. Noginov, M. Vondrova, S. M. Williams, M. Bahoura, V. I. Gavrilenko, S. M. Black, V. P. Drachev, V. M. Shalaev und A. Sykes. Spectroscopic studies of liquid solutions of R6G laser dye and Ag nanoparticle aggregates. *J. Opt. A-Pure Appl. Opt.* **7**(2), S219 (2005). [→ Seite 12]
- [34] M. Fleischmann, P. J. Hendra und A. J. McQuillan. Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode. *Chem. Phys. Lett.* **26**(2), 163 (1974). [→ Seiten 12, 16 und 43]
- [35] M. G. Albrecht und J. A. Creighton. Anomalously intense Raman spectra of pyridine at a silver electrode. *J. Am. Chem. Soc.* **99**(15), 5215 (1977). [→ Seiten 12, 16 und 43]

- [36] D. L. Jeanmaire und R. P. Van Duyne. Surface raman spectroelectrochemistry: Part I. Heterocyclic, aromatic, and aliphatic amines adsorbed on the anodized silver electrode. *J. Electroanal. Chem.* **84**(1), 1 (1977). [→ Seiten 12 und 43]
- [37] S. Nie und S. R. Emory. Probing Single Molecules and Single Nanoparticles by Surface-Enhanced Raman Scattering. *Science* **275**(5303), 1102 (1997). [→ Seiten 12 und 106]
- [38] K. Kneipp, H. Kneipp, R. Manoharan, E. B. Hanlon, I. Itzkan, R. R. Dasari und M. S. Feld. Extremely large enhancement factors in surface-enhanced Raman scattering for molecules on colloidal gold clusters. *Appl. Spectrosc.* **52**(12), 1493 (1998). [→ Seiten 12, 43 und 110]
- [39] K. Kneipp, H. Kneipp, V. B. Kartha, R. Manoharan, G. Deinum, I. Itzkan, R. R. Dasari und M. S. Feld. Detection and identification of a single DNA base molecule using surface-enhanced Raman scattering (SERS). *Phys. Rev. E* **57**(6), R6281 (1998). [→ Seiten 12 und 43]
- [40] S. Sasic, T. Itoh und Y. Ozaki. Detailed analysis of single-molecule surface-enhanced resonance Raman scattering spectra of Rhodamine 6G obtained from isolated nano-aggregates of colloidal silver. *J. Raman Spect.* **36**(6-7), 593 (2005). [→ Seiten 12, 43 und 106]
- [41] H. Xu, E. J. Bjerneld, M. Käll und L. Börjesson. Spectroscopy of Single Hemoglobin Molecules by Surface Enhanced Raman Scattering. *Phys. Rev. Lett.* **83**(21), 4357 (1999). [→ Seiten 12, 43 und 105]
- [42] H. Xu und M. Käll. Polarization-Dependent Surface-Enhanced Raman Spectroscopy of Isolated Silver Nanoaggregates. *ChemPhysChem* **4**(9), 1001 (2003). [→ Seiten 12, 43 und 105]
- [43] C. E. Talley, J. B. Jackson, C. Oubre, N. K. Grady, C. W. Hollars, S. M. Lane, T. R. Huser, P. Nordlander und N. J. Halas. Surface-Enhanced Raman Scattering from Individual Au Nanoparticles and Nanoparticle Dimer Substrates. *Nano Lett.* **5**(8), 1569 (2005). [→ Seiten 12, 43 und 105]
- [44] A. Bek, R. Jansen, M. Ringler, S. Mayilo, T. A. Klar und J. Feldmann. Fluorescence Enhancement in Hot Spots of AFM-Designed Gold Nanoparticle Sandwiches. *Nano Lett.* **8**(2), 485 (2008). [→ Seiten 12, 85, 86, 87, 91 und 118]
- [45] O. L. Muskens, V. Giannini, J. A. Sánchez-Gil und J. Gómez Rivas. Strong Enhancement of the Radiative Decay Rate of Emitters by Single Plasmonic Nanoantennas. *Nano Lett.* **7**(9), 2871 (2007). [→ Seiten 12, 83, 84, 85 und 91]

- [46] J. Zhang, Y. Fu, M. H. Chowdhury und J. R. Lakowicz. Metal-Enhanced Single-Molecule Fluorescence on Silver Particle Monomer and Dimer: Coupling Effect between Metal Particles. *Nano Lett.* **7**(7), 2101 (2007). [→ Seiten 12, 83, 85 und 91]
- [47] G. Raschke. *Molekulare Erkennung mit einzelnen Gold-Nanopartikeln*. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München (2005). [→ Seiten 15, 48, 62 und 100]
- [48] P. B. Johnson und R. W. Christy. Optical Constants of the Noble Metals. *Phys. Rev. B* **6**(12), 4370 (1972). [→ Seiten 15 und 30]
- [49] K. Kneipp, Y. Wang, H. Kneipp, L. T. Perelman, I. Itzkan, R. Dasari und M. S. Feld. Single molecule detection using surface-enhanced Raman scattering (SERS). *Phys. Rev. Lett.* **78**(9), 1667 (1997). [→ Seite 16]
- [50] C. Sönnichsen, S. Geier, N. E. Hecker, G. von Plessen, J. Feldmann, H. Ditlbacher, B. Lamprecht, J. R. Krenn, F. R. Aussenegg, V. Z.-H. Chan, J. P. Spatz und M. Möller. Spectroscopy of single metallic nanoparticles using total internal reflection microscopy. *Appl. Phys. Lett.* **77**(19), 2949 (2000). [→ Seite 16]
- [51] C. Sönnichsen, T. Franzl, T. Wilk, G. von Plessen, J. Feldmann, O. Wilson und P. Mulvaney. Drastic Reduction of Plasmon Damping in Gold Nanorods. *Phys. Rev. Lett.* **88**(7), 077402 (2002). [→ Seiten 16 und 61]
- [52] E. J. Heilweil und R. M. Hochstrasser. Nonlinear spectroscopy and picosecond transient grating study of colloidal gold. *J. Chem. Phys.* **82**(11), 4762 (1985). [→ Seite 16]
- [53] U. Kreibig und M. Vollmer. *Optical properties of metal clusters*, Bd. 25 von *Springer series in materials science*. Springer, Berlin u.a. (1995). [→ Seiten 16 und 23]
- [54] D. Boyer, P. Tamarat, A. Maali, B. Lounis und M. Orrit. Photothermal Imaging of Nanometer-Sized Metal Particles Among Scatterers. *Science* **297**(5584), 1160 (2002). [→ Seite 17]
- [55] G. Hüttmann, B. Radt, J. Serbin, B. I. Lange und R. Birngruber. High Precision Cell Surgery with Nanoparticles? *Medical Laser Application* **17**(1), 9 (2002). [→ Seite 17]
- [56] J. Stehr, C. Hrelescu, R. Sperling, G. Raschke, M. Wunderlich, A. Nichtl, D. Heindl, K. Kürzinger, W. J. Parak, T. A. Klar und J. Feldmann. Gold NanoStoves for Microsecond DNA Melting Analysis. *Nano Lett.* **8**(2), 619 (2008). [→ Seite 17]
- [57] C. F. Bohren und D. R. Huffman. *Absorption and Scattering of Light by Small Particles*. John Wiley, New York u. a. (1998). [→ Seiten 18, 20, 21 und 22]
- [58] Y.-l. Xu. Electromagnetic scattering by an aggregate of spheres. *Appl. Opt.* **34**(21), 4573 (1995). [→ Seiten 18, 20, 21, 25 und 116]

- [59] Y.-I. Xu. Electromagnetic scattering by an aggregate of spheres: errata. *Appl. Opt.* **37**(27), 6494 (1998). [→ Seiten 18, 25 und 116]
- [60] P. Nordlander, C. Oubre, E. Prodan, K. Li und M. I. Stockman. Plasmon Hybridization in Nanoparticle Dimers. *Nano Lett.* **4**(5), 899 (2004). [→ Seiten 21 und 32]
- [61] S. Stein. Addition theorems for spherical wave functions. *Q. Appl. Math.* **19**, 15 (1961). [→ Seite 27]
- [62] O. R. Cruzan. Translational addition theorems for spherical vector wave functions. *Q. Appl. Math.* **20**, 33 (1962). [→ Seite 27]
- [63] Y.-I. Xu. Electromagnetic scattering by an aggregate of spheres: far field. *Appl. Opt.* **36**(36), 9496 (1997). [→ Seiten 28, 79 und 116]
- [64] Y.-I. Xu. Electromagnetic scattering by an aggregate of spheres: asymmetry parameter. *Phys. Lett. A* **249**(1-2), 30 (1998). [→ Seiten 28, 79 und 116]
- [65] B. T. Draine. The Discrete-Dipole Approximation and Its Application to Interstellar Graphite Grains. *Astrophys. J.* **333**, 848 (1988). [→ Seite 29]
- [66] E. Moreno, D. Erni, C. Hafner und R. Vahldieck. Multiple multipole method with automatic multipole setting applied to the simulation of surface plasmons in metallic nanostructures. *J. Opt. Soc. Am. A* **19**(1), 101 (2002). [→ Seite 29]
- [67] A. Farjadpour, D. Roundy, A. Rodriguez, M. Ibanescu, P. Bermel, J. D. Joannopoulos, S. G. Johnson und G. W. Burr. Improving accuracy by subpixel smoothing in the finite-difference time domain. *Opt. Lett.* **31**(20), 2972 (2006). [→ Seite 29]
- [68] C. Girard und A. Dereux. Near-field optics theories. *Rep. Prog. Phys.* **59**(5), 657 (1996). [→ Seite 29]
- [69] T. Wriedt. A Review of Elastic Light Scattering Theories. *Part. Part. Syst. Charact.* **15**(2), 67 (1998). [→ Seite 29]
- [70] E. Hao und G. C. Schatz. Electromagnetic fields around silver nanoparticles and dimers. *J. Chem. Phys.* **120**(1), 357 (2004). [→ Seite 29]
- [71] P. K. Jain, W. Huang und M. A. El-Sayed. On the Universal Scaling Behavior of the Distance Decay of Plasmon Coupling in Metal Nanoparticle Pairs: A Plasmon Ruler Equation. *Nano Lett.* **7**(7), 2080 (2007). [→ Seiten 29 und 32]
- [72] B. T. Draine und P. J. Flatau. User Guide for the Discrete Dipole Approximation Code DDSCAT.6.0. <http://arxiv.org/abs/astro-ph/0309069> (2003). [→ Seite 29]

- [73] Y.-L. Xu und B. Å. S. Gustafson. Comparison between Multisphere Light-scattering Calculations: Rigorous Solution and Discrete-Dipole Approximation. *Astrophys. J.* **513**(2), 894 (1999). [→ Seite 29]
- [74] C. Hrelescu. *Optothermisches DNA-Schmelzen in Gold-Nanopartikel-Aggregaten*. Diplomarbeit, Ludwig-Maximilians-Universität München (2007). [→ Seite 30]
- [75] C. Hrelescu. Persönliche Mitteilung (2008). [→ Seite 30]
- [76] P. J. Sims, A. S. Waggoner, C.-H. Wang und J. F. Hoffman. Mechanism by which cyanine dyes measure membrane potential in red blood cells and phosphatidylcholine vesicles. *Biochemistry* **13**(16), 3315 (1974). [→ Seite 39]
- [77] C. S. Yun, A. Javier, T. Jennings, M. Fisher, S. Hira, S. Peterson, B. Hopkins, N. O. Reich und G. F. Strouse. Nanometal Surface Energy Transfer in Optical Rulers, Breaking the FRET Barrier. *J. Am. Chem. Soc.* **127**(9), 3115 (2005). [→ Seite 40]
- [78] G. Schneider, G. Decher, N. Nerambourg, R. Praho, M. H. V. Werts und M. Blanchard-Desce. Distance-Dependent Fluorescence Quenching on Gold Nanoparticles Ensheathed with Layer-by-Layer Assembled Polyelectrolytes. *Nano Lett.* **6**(3), 530 (2006). [→ Seite 40]
- [79] J. Seelig, K. Leslie, A. Renn, S. Kuhn, V. Jacobsen, M. van de Corput, C. Wyman und V. Sandoghdar. Nanoparticle-Induced Fluorescence Lifetime Modification as Nanoscopic Ruler: Demonstration at the Single Molecule Level. *Nano Lett.* **7**(3), 685 (2007). [→ Seiten 40 und 83]
- [80] Y. Chen, K. Munechika und D. S. Ginger. Dependence of Fluorescence Intensity on the Spectral Overlap between Fluorophores and Plasmon Resonant Single Silver Nanoparticles. *Nano Lett.* **7**(3), 690 (2007). [→ Seite 40]
- [81] F. Tam, G. P. Goodrich, B. R. Johnson und N. J. Halas. Plasmonic Enhancement of Molecular Fluorescence. *Nano Lett.* **7**(2), 496 (2007). [→ Seiten 40, 85 und 91]
- [82] J. Gersten und A. Nitzan. Spectroscopic properties of molecules interacting with small dielectric particles. *J. Chem. Phys.* **75**(3), 1139 (1981). [→ Seiten 40, 77, 78, 80 und 124]
- [83] P. T. Leung. Decay of molecules at spherical surfaces: Nonlocal effects. *Phys. Rev. B* **42**(12), 7622 (1990). [→ Seiten 40, 124 und 125]
- [84] O. Andreussi, S. Corni, B. Mennucci und J. Tomasi. Radiative and nonradiative decay rates of a molecule close to a metal particle of complex shape. *J. Chem. Phys.* **121**(20), 10190 (2004). [→ Seiten 40 und 125]

- [85] E. M. Purcell. Spontaneous Emission Probabilities at Radio Frequencies. *Phys. Rev.* **69**(11-12), 674. B10 (1946). [→ Seite 40]
- [86] E. Fermi. Quantum Theory of Radiation. *Rev. Mod. Phys.* **4**(1), 87 (1932). [→ Seite 41]
- [87] D. Kleppner. Inhibited Spontaneous Emission. *Phys. Rev. Lett.* **47**(4), 233 (1981). [→ Seite 41]
- [88] K. H. Drexhage, H. Kuhn und F. P. Schäfer. Variation of the Fluorescence Decay Time of a Molecule in Front of a Mirror. *Ber. Bunsen Phys. Chem.* **72**(2), 329 (1968). [→ Seite 41]
- [89] P. Stehle. Atomic Radiation in a Cavity. *Phys. Rev. A* **2**(1), 102 (1970). [→ Seite 41]
- [90] D. J. Heinzen, J. J. Childs, J. E. Thomas und M. S. Feld. Enhanced and inhibited visible spontaneous emission by atoms in a confocal resonator. *Phys. Rev. Lett.* **58**(13), 1320 (1987). [→ Seite 41]
- [91] F. De Martini, G. Innocenti, G. R. Jacobovitz und P. Mataloni. Anomalous Spontaneous Emission Time in a Microscopic Optical Cavity. *Phys. Rev. Lett.* **59**(26), 2955 (1987). [→ Seite 41]
- [92] H. Yokoyama, K. Nishi, T. Anan, H. Yamada, S. D. Brorson und E. P. Ippen. Enhanced spontaneous emission from GaAs quantum wells in monolithic microcavities. *Appl. Phys. Lett.* **57**(26), 2814 (1990). [→ Seite 41]
- [93] M. Suzuki, H. Yokoyama, S. D. Brorson und E. P. Ippen. Observation of spontaneous emission lifetime change of dye-containing Langmuir-Blodgett films in optical microcavities. *Appl. Phys. Lett.* **58**(10), 998 (1991). [→ Seite 41]
- [94] K. J. Vahala. Optical microcavities. *Nature* **424**(6950), 839 (2003). [→ Seite 41]
- [95] M. Steiner, F. Schleifenbaum, C. Stupperich, A. V. Failla, A. Hartschuh und A. J. Meixner. Microcavity-Controlled Single-Molecule Fluorescence. *ChemPhysChem* **6**(10), 2190 (2005). [→ Seite 41]
- [96] A. Smekal. Zur Quantentheorie der Dispersion. *Naturwissenschaften* **11**(43), 873 (1923). [→ Seite 42]
- [97] C. V. Raman. A new radiation. *Ind. J. Phys.* **2**, 387 (1928). [→ Seite 42]
- [98] G. Landsberg und L. Mandelstam. Eine neue Erscheinung bei der Lichtzerstreuung in Krystallen. *Naturwissenschaften* **16**(28), 557 (1928). [→ Seite 42]
- [99] R. Singh und F. Riess. The 1930 Nobel Prize for Physics: A close decision? *Notes Rec. R. Soc. Lond.* **55**(2), 267 (2001). [→ Seite 42]

- [100] Y. Kato und H. Takuma. Absolute Measurement of Raman-Scattering Cross Sections of Liquids. *J. Opt. Soc. Am.* **61**(3), 347 (1971). [→ Seite 42]
- [101] V. Gamalii. Measurement of the raman scattering cross-section by an intracavity method. *J. Appl. Spectr.* **62**(6), 1001 (1995). [→ Seite 42]
- [102] H. Naus und W. Ubachs. Experimental verification of Rayleigh scattering cross sections. *Opt. Lett.* **25**(5), 347 (2000). [→ Seite 42]
- [103] I. Pockrand, J. Billmann und A. Otto. Surface enhanced Raman scattering (SERS) from pyridine on silver-UHV interfaces: Excitation spectra. *J. Chem. Phys.* **78**(11), 6384 (1983). [→ Seite 43]
- [104] A. Otto, I. Mrozek, H. Grabhorn und W. Akemann. Surface-enhanced Raman scattering. *J. Phys.: Condens. Matter* **4**(5), 1143 (1992). [→ Seite 43]
- [105] M. Moskovits. Surface-enhanced spectroscopy. *Rev. Mod. Phys.* **57**(3), 783 (1985). [→ Seite 43]
- [106] K. Kneipp, H. Kneipp, I. Itzkan, R. R. Dasari und M. S. Feld. Ultrasensitive Chemical Analysis by Raman Spectroscopy. *Chem. Rev.* **99**(10), 2957 (1999). [→ Seiten 43 und 106]
- [107] M. Moskovits. Surface roughness and the enhanced intensity of Raman scattering by molecules adsorbed on metals. *J. Chem. Phys.* **69**(9), 4159 (1978). [→ Seite 43]
- [108] M. Ringler, T. A. Klar, A. Schwemer, A. S. Susa, J. Stehr, G. Raschke, S. Funk, M. Borowski, A. Nichtl, K. Kürzinger, R. T. Phillips und J. Feldmann. Moving Nanoparticles with Raman Scattering. *Nano Lett.* **7**(9), 2753 (2007). [→ Seiten 43 und 116]
- [109] V. A. Podolskiy und V. M. Shalaev. Giant Optical Responses in Microcavity-Fractal Composites. *Laser Phys.* **11**(1), 26 (2001). [→ Seite 43]
- [110] J. Turkevich, P. C. Stevenson und J. Hillier. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. *Discuss. Faraday Soc.* **11**, 55 (1951). [→ Seite 44]
- [111] G. Frens. Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold suspensions. *Nature Phys. Sci.* **241**(105), 20 (1973). [→ Seite 44]
- [112] D. E. Hyre, I. Le Trong, E. A. Merritt, N. M. Green, R. E. Stenkamp und P. S. Stayton. Wildtype Core-Streptavidin with Biotin at 1.4Å. Protein database 1MK5 (2003). [→ Seite 45]
- [113] Uniprot Database Entry SAV_STRAV P22629. <http://www.expasy.org/uniprot/P22629>. [→ Seite 45]

- [114] E. A. Bayer, H. Ben-Hur, G. Gitlin und M. Wilchek. An improved method for the single-step purification of streptavidin. *J. Biochem. Biophys. Meth.* **13**(2), 103 (1986).
[→ Seite 45]
- [115] Roche Diagnostics GmbH, Roche Applied Science Immunology, Sandhofer Straße 116, 68305 Mannheim. *Streptavidin SQ for the Diagnostic Industry*, 2. Aufl.
<http://tinyurl.com/23se87> (2002). [→ Seiten 45 und 46]
- [116] E. P. Diamandis und T. K. Christopoulos. The biotin-(strept)avidin system: principles and applications in biotechnology. *Clin. Chem.* **37**(5), 625 (1991). [→ Seiten 45 und 46]
- [117] C. E. Argaraña, I. D. Kuntz, S. Birken, R. Axel und C. R. Cantor. Molecular cloning and nucleotide sequence of the streptavidin gene. *Nucl. Acids Res.* **14**(4), 1871 (1986).
[→ Seite 45]
- [118] E. A. Bayer, H. Ben-Hur, Y. Hiller und M. Wilchek. Postsecretory modifications of streptavidin. *Biochem. J.* **259**(2), 369 (1989). [→ Seite 45]
- [119] A. Pähler, W. A. Hendrickson, M. A. Gawinowicz Kolks, C. E. Argaraña und C. R. Cantor. Characterization and crystallization of core streptavidin. *J. Biol. Chem.* **262**(29), 13933 (1987). [→ Seite 45]
- [120] L. Chalet und F. J. Wolf. The properties of streptavidin, a biotin-binding protein produced by Streptomyces. *Arch. Biochem. Biophys.* **106**, 1 (1964). [→ Seiten 45 und 46]
- [121] C. E. Jordan, A. G. Frutos, A. J. Thiel und R. M. Corn. Surface Plasmon Resonance Imaging Measurements of DNA Hybridization Adsorption and Streptavidin/DNA Multilayer Formation at Chemically Modified Gold Surfaces. *Anal. Chem.* **69**(24), 4939 (1997).
[→ Seite 45]
- [122] A. Arakaki, S. Hideshima, T. Nakagawa, D. Niwa, T. Tanaka, T. Matsunaga und T. Osaka. Detection of biomolecular interaction between biotin and streptavidin on a self-assembled monolayer using magnetic nanoparticles. *Biotech. Bioeng.* **88**(4), 543 (2004). [→ Seite 45]
- [123] P. C. Weber, D. H. Ohlendorf, J. J. Wendoloski und F. R. Salemme. Structural Origins of High-Affinity Biotin Binding to Streptavidin. *Science* **243**(4887), 85 (1989). [→ Seite 46]
- [124] W. A. Hendrickson, A. Pahler, J. L. Smith, Y. Satow, E. A. Merritt und R. P. Phizackerley. Crystal Structure of Core Streptavidin Determined from Multiwavelength Anomalous Diffraction of Synchrotron Radiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **86**(7), 2190 (1989).
[→ Seite 46]
- [125] S. Freitag, I. Le Trong, L. Klumb, P. S. Stayton und R. E. Stenkamp. Structural studies of the streptavidin binding loop. *Protein Sci.* **6**(6), 1157 (1997). [→ Seite 46]

- [126] S. Freitag, I. Le Trong, A. Chilkoti, L. A. Klumb, P. S. Stayton und R. E. Stenkamp. Structural studies of binding site tryptophan mutants in the high-affinity streptavidin-biotin complex. *J. Mol. Biol.* **279**(1), 211 (1998). [→ Seite 46]
- [127] Uniprot Database Entry ALBU_BOVIN P02769. <http://www.expasy.org/uniprot/P02769>. [→ Seite 47]
- [128] K. Hirayama, S. Akashi, M. Furuya und K.-i. Fukuhara. Rapid confirmation and revision of the primary structure of bovine serum albumin by ESIMS and frit-FAB LC/MS. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **173**(2), 639 (1990). [→ Seite 47]
- [129] J. Christodoulou, P. J. Sadler und A. Tucker. A New Structural Transition of Serum Albumin Dependent on the State of Cys34. *Eur. J. Biochem.* **225**(1), 363 (1994). [→ Seite 47]
- [130] G.-L. Friedli. *Interaction of deamidated soluble wheat protein (SWP) with other food proteins and metals*. Doktorarbeit, University of Surrey (1996). [→ Seite 47]
- [131] M. L. Ferrer, R. Duchowicz, B. Carrasco, J. G. de la Torre und A. U. Acuna. The Conformation of Serum Albumin in Solution: A Combined Phosphorescence Depolarization-Hydrodynamic Modeling Study. *Biophys. J.* **80**(5), 2422 (2001). [→ Seite 47]
- [132] D. Malamud und J. W. Drysdale. Isoelectric points of proteins: A table. *Anal. Biochem.* **86**(2), 620 (1978). [→ Seite 47]
- [133] G. T. Hermanson. *Bioconjugate techniques*. Academic Press, San Diego (1996). [→ Seiten 47 und 48]
- [134] Malvern Instruments Ltd, Enigma Business Park, Grovewood Road, Malvern, UK. *Zeta Potential - An Introduction in 30 Minutes* (2005). [→ Seiten 49 und 50]
- [135] B. V. Derjaguin und L. Landau. Theory of the stability of strongly charged lyophobic sols and of the adhesion of strongly charged particles in solution of electrolytes. *Acta Physicochim. URSS* **14**, 633 (1941). [→ Seite 50]
- [136] E. J. Verwey, J. T. G. Overbeek und K. v. Nes. *Theory of the Stability of Lyophobic Colloids*. Elsevier, New York u. a. (1948). [→ Seite 50]
- [137] H.-H. Kohler. Van-der-Waals-Wechselwirkung und DLVO-Theorie. <http://www-analytik.chemie.uni-regensburg.de/hahe-doc/gf2/06grf-c.pdf> (2006). [→ Seite 50]
- [138] D. C. Henry. The Cataphoresis of Suspended Particles. Part I. - The Equation of Cataphoresis. *Proc. Roy. Soc. London A* **133**(821), 106 (1931). [→ Seite 55]

- [139] J. F. Miller, K. Schatzel und B. Vincent. The determination of very small electrophoretic mobilities in polar and nonpolar colloidal dispersions using phase analysis light scattering. *J. Colloid Interface Sci.* **143**(2), 532 (1991). [→ Seite 55]
- [140] W. W. Tscharnuter. Mobility measurements by phase analysis. *Appl. Opt.* **40**(24), 3995 (2001). [→ Seite 55]
- [141] A. H. Gordon, B. Keil, K. Sebasta, O. Knessl und F. Sorm. Electrophoresis of proteins in agar jelly. *Coll. Czech. Chem. Commun.* **15**, 1 (1950). [→ Seite 56]
- [142] P. Grabar und C. A. Williams, Jr. Methode immuno-electrophoretique d'analyse de melanges de substances antigeniques. *Biochim. Biophys. Acta* **17**, 67 (1955). [→ Seite 56]
- [143] P. G. Righetti und C. Gelfi. Electrophoresis gel media: the state of the art. *J. Chromatogr. B* **699**(1-2), 63 (1997). [→ Seite 56]
- [144] P. Serwer. Agarose gels: Properties and use for electrophoresis. *Electrophoresis* **4**(6), 375 (1983). [→ Seiten 56 und 57]
- [145] N. Pernodet, M. Maaloum und B. Tinland. Pore size of agarose gels by atomic force microscopy. *Electrophoresis* **18**(1), 55 (1997). [→ Seite 57]
- [146] G. K. Ackers und R. L. Steere. Restricted diffusion of macromolecules through agar-gel membranes. *Biochim. Biophys. Acta* **59**(1), 137 (1962). [→ Seite 57]
- [147] T. G. Schaaff, G. Knight, M. N. Shafigullin, R. F. Borkman und R. L. Whetten. Isolation and Selected Properties of a 10.4 kDa Gold:Glutathione Cluster Compound. *J. Phys. Chem. B* **102**(52), 10643 (1998). [→ Seite 58]
- [148] C. J. Loweth, W. B. Caldwell, X. Peng, A. P. Alivisatos und P. G. Schultz. DNA-Based Assembly of Gold Nanocrystals. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **38**(12), 1808 (1999). [→ Seite 58]
- [149] D. Zanchet, C. M. Micheel, W. J. Parak, D. Gerion und A. P. Alivisatos. Electrophoretic Isolation of Discrete Au Nanocrystal/DNA Conjugates. *Nano Lett.* **1**(1), 32 (2001). [→ Seite 58]
- [150] D. Zanchet, C. M. Micheel, W. J. Parak, D. Gerion, S. C. Williams und A. P. Alivisatos. Electrophoretic and Structural Studies of DNA-Directed Au Nanoparticle Groupings. *J. Phys. Chem. B* **106**(45), 11758 (2002). [→ Seite 58]
- [151] W. J. Parak, T. Pellegrino, C. M. Micheel, D. Gerion, S. C. Williams und A. P. Alivisatos. Conformation of Oligonucleotides Attached to Gold Nanocrystals Probed by Gel Electrophoresis. *Nano Lett.* **3**(1), 33 (2003). [→ Seite 58]

- [152] A. Fu, C. M. Micheel, J. Cha, H. Chang, H. Yang und A. P. Alivisatos. Discrete Nanostructures of Quantum Dots/Au with DNA. *J. Am. Chem. Soc.* **126**(35), 10832 (2004). [→ Seite 58]
- [153] S. A. Claridge, S. L. Goh, J. M. J. Fréchet, S. C. Williams, C. M. Micheel und A. P. Alivisatos. Directed Assembly of Discrete Gold Nanoparticle Groupings Using Branched DNA Scaffolds. *Chem. Mater.* **17**(7), 1628 (2005). [→ Seiten 58 und 59]
- [154] M. Hanauer, S. Pierrat, I. Zins, A. Lotz und C. Sönnichsen. Separation of Nanoparticles by Gel Electrophoresis According to Size and Shape. *Nano Lett.* **7**(9), 2881 (2007). [→ Seite 58]
- [155] M. Knoll und E. Ruska. Beitrag zur geometrischen Elektronenoptik. I. *Annal. Phys.* **404**(5), 607 (1932). [→ Seite 60]
- [156] M. Knoll und E. Ruska. Beitrag zur geometrischen Elektronenoptik. II. *Annalen der Physik* **404**(6), 641 (1932). [→ Seite 60]
- [157] G. Raschke, S. Kowarik, T. Franzl, C. Sönnichsen, T. A. Klar, J. Feldmann, A. Nichtl und K. Kürzinger. Biomolecular Recognition Based on Single Gold Nanoparticle Light Scattering. *Nano Lett.* **3**(7), 935 (2003). [→ Seite 61]
- [158] C. Sönnichsen. *Plasmons in metal nanostructures*. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München (2001). [→ Seite 62]
- [159] A. Savitzky und M. J. E. Golay. Smoothing and Differentiation of Data by Simplified Least Squares Procedures. *Analytical Chemistry* **36**(8), 1627 (1964). [→ Seite 64]
- [160] J. R. Lakowicz. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York u. a., 2. Aufl. (1999). [→ Seite 64]
- [161] K. Aslan, C. C. Luhrs und V. H. Pérez-Luna. Controlled and Reversible Aggregation of Biotinylated Gold Nanoparticles with Streptavidin. *J. Phys. Chem. B* **108**(40), 15631 (2004). [→ Seiten 68 und 69]
- [162] W. S. Rasband et al. ImageJ v1.35f. <http://rsb.info.nih.gov/ij/>. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA (2005). [→ Seite 73]
- [163] H. Xu, J. Aizpurua, M. Käll und P. Apell. Electromagnetic contributions to single-molecule sensitivity in surface-enhanced Raman scattering. *Phys. Rev. E* **62**, 4318 (2000). [→ Seite 75]
- [164] H. Xu. *Surface Plasmon Photonics: From Optical Properties of Nanoparticles to Single Molecule Surface-Enhanced Raman Scattering*. Doktorarbeit, Chalmers University of Technology and Göteborg University (2002). [→ Seite 75]

- [165] H. Chew, P. J. McNulty und M. Kerker. Model for Raman and fluorescent scattering by molecules embedded in small particles. *Phys. Rev. A* **13**(1), 396 (1976).
[→ Seiten 75 und 88]
- [166] M. Kerker, D.-S. Wang und H. Chew. Surface enhanced Raman scattering (SERS) by molecules adsorbed at spherical particles: errata. *Appl. Opt.* **19**(24), 4159 (1980).
[→ Seiten 75, 78 und 88]
- [167] M. Inoue und K. Ohtaka. Surface Enhanced Raman Scattering by Metal Spheres. I. Cluster Effect. *J. Phys. Soc. Jpn.* **52**(11), 3853 (1989). [→ Seite 75]
- [168] T. Härtling, P. Reichenbach und L. M. Eng. Near-field coupling of a single fluorescent molecule and a spherical gold nanoparticle. *Opt. Express* **15**(20), 12806 (2007).
[→ Seiten 76, 120, 121, 123, 124 und 126]
- [169] J. A. Stratton. *Electromagnetic theory*. International Series in Pure and Applied Physics. McGraw-Hill, New York and London (1941). [→ Seiten 77 und 78]
- [170] J. D. Jackson. *Classical Electrodynamics*. John Wiley & Sons, New York u. a., 3. Aufl. (1999).
[→ Seite 77]
- [171] P. Bharadwaj und L. Novotny. Spectral dependence of single molecule fluorescence enhancement. *Opt. Express* **15**(21), 14266 (2007). [→ Seite 78]
- [172] A. B. Myers. Molecular electronic spectral broadening in liquids and glasses. *Ann. Rev. Phys. Chem.* **49**(1), 267 (1998). [→ Seite 82]
- [173] T. A. Klar, E. Dulkeith und J. Feldmann. Time Resolved Fluorescence Measurements of Fluorophores Close to Metal Nanoparticles. In C. D. Geddes und J. R. Lakowicz, Hg., *Radiative Decay Engineering*, Bd. 8 von *Topics in Fluorescence Spectroscopy*. Springer, Berlin (2005). [→ Seite 83]
- [174] F. E. Hernández, S. Yu, M. García und A. D. Campiglia. Fluorescence Lifetime Enhancement of Organic Chromophores Attached to Gold Nanoparticles. *J. Phys. Chem. B* **109**(19), 9499 (2005). [→ Seite 83]
- [175] K. Kneipp, H. Kneipp und J. Kneipp. Surface-enhanced Raman scattering in local optical fields of silver and gold nanoaggregates - From single-molecule Raman spectroscopy to ultrasensitive probing in live cells. *Acc. Chem. Res.* **39**(7), 443 (2006). [→ Seite 85]
- [176] J. R. Lakowicz, C. D. Geddes, I. Gryczynski, J. Malicka, Z. Gryczynski, K. Aslan, J. Lukomska, E. Matveeva, J. Zhang, R. Badugu und J. Huang. Advances in Surface-Enhanced Fluorescence. *J. Fluorescence* **14**(4), 425 (2004). [→ Seite 85]

- [177] E. C. Le Ru, P. G. Etchegoin, J. Grand, N. Felidj, J. Aubard und G. Levi. Mechanisms of Spectral Profile Modification in Surface-Enhanced Fluorescence. *J. Phys. Chem. C* **111**(44), 16076 (2007). [→ Seite 91]
- [178] J. N. Farahani, D. W. Pohl, H.-J. Eisler und B. Hecht. Single Quantum Dot Coupled to a Scanning Optical Antenna: A Tunable Superemitter. *Phys. Rev. Lett.* **95**(1), 017402 (2005). [→ Seite 91]
- [179] I. J. Schoenberg. Contributions to the problem of approximation of equidistant data by analytic functions. A. On the problem of smoothing or graduation - a 1st class of analytic approximation formulae. *Q. Appl. Math.* **4**(1), 45 (1946). [→ Seite 95]
- [180] R. L. Burden und J. D. Faires. *Numerical Analysis*. PWS-Kent, 4. Aufl. (1989). [→ Seite 95]
- [181] G. Raschke, S. Brogl, A. S. Susa, A. L. Rogach, T. A. Klar, J. Feldmann, B. Fieres, N. Petkov, T. Bein, A. Nichtl und K. Kürzinger. Gold Nanoshells Improve Single Nanoparticle Molecular Sensors. *Nano Lett.* **4**(10), 1853 (2004). [→ Seite 101]
- [182] Y. D. Suh, G. K. Schenter, L. Zhu und H. P. Lu. Probing nanoscale surface enhanced Raman-scattering fluctuation dynamics using correlated AFM and confocal ultramicroscopy. *Ultramicroscopy* **97**(1-4), 89 (2003). [→ Seite 106]
- [183] J. Grdadolnik. Conformation of Bovine Serum Albumin as a Function of Hydration Monitored by Infrared Spectroscopy. *Int. J. Vibr. Spec.* **6**(1), 6 (2002). [→ Seite 106]
- [184] A. Torreggiani und G. Fini. The binding of biotin analogues by streptavidin: A Raman spectroscopic study. *Biospectroscopy* **4**(3), 197 (1998). [→ Seite 106]
- [185] K. Kneipp, Y. Wang, H. Kneipp, I. Itzkan, R. R. Dasari und M. S. Feld. Population pumping of excited vibrational states by spontaneous surface-enhanced Raman scattering. *Phys. Rev. Lett.* **76**(14), 2444 (1996). [→ Seite 110]
- [186] K. Kneipp und H. Kneipp. SERS signals at the anti Stokes side of the excitation laser in extremely high local optical fields of silver and gold nanoclusters. *Faraday Discuss.* **132**, 27 (2006). [→ Seite 110]
- [187] E. C. Le Ru und P. G. Etchegoin. Vibrational pumping and heating under SERS conditions: fact or myth? *Faraday Discuss.* **132**, 63 (2006). [→ Seite 110]
- [188] R. C. Maher, P. G. Etchegoin, E. C. Le Ru und L. F. Cohen. A conclusive demonstration of vibrational pumping under Surface Enhanced Raman Scattering conditions. *J. Phys. Chem. B* **110**(24), 11757 (2006). [→ Seite 110]
- [189] B. C. Dian, A. Longarte und T. S. Zwier. Conformational Dynamics in a Dipeptide After Single-Mode Vibrational Excitation. *Science* **296**(5577), 2369 (2002). [→ Seite 110]

- [190] M. Rief, M. Gautel, F. Oesterhelt, J. M. Fernandez und H. E. Gaub. Reversible Unfolding of Individual Titin Immunoglobulin Domains by AFM. *Science* **276**(5315), 1109 (1997).
[→ Seite 112]
- [191] L. Tskhovrebova, J. Trinick, J. A. Sleep und R. M. Simmons. Elasticity and unfolding of single molecules of the giant muscle protein titin. *Nature* **387**(6630), 308 (1997).
[→ Seite 112]
- [192] M. S. Z. Kellermayer, S. B. Smith, H. L. Granzier und C. Bustamante. Folding-Unfolding Transitions in Single Titin Molecules Characterized with Laser Tweezers. *Science* **276**(5315), 1112 (1997). [→ Seite 112]
- [193] H. Xu und M. Käll. Surface-plasmon-enhanced optical forces in silver nanoaggregates. *Phys. Rev. Lett.* **89**(24), 246802 (2002). [→ Seite 112]
- [194] R. Fuchs und F. Claro. Enhanced nonconservative forces between polarizable nanoparticles in a time-dependent electric field. *Appl. Phys. Lett.* **85**(15), 3280 (2004).
[→ Seite 112]
- [195] M. Vollmer, R. Weidenauer, W. Hoheisel, U. Schulte und F. Träger. Size manipulation of metal particles with laser light. *Phys. Rev. B* **40**(18), 12509 (1989). [→ Seite 114]
- [196] D. A. Genov, A. K. Sarychev und V. M. Shalaev. Metal-dielectric composite filters with controlled spectral windows of transparency. *J. Nonlinear Opt. Phys. Mater.* **12**(4), 419 (2003). [→ Seite 114]
- [197] Q.-H. Wei, K.-H. Su, S. Durant und X. Zhang. Plasmon Resonance of Finite One-Dimensional Au Nanoparticle Chains. *Nano Lett.* **4**(6), 1067 (2004). [→ Seite 114]
- [198] M. Salerno, J. R. Krenn, A. Hohenau, H. Ditlbacher, G. Schider, A. Leitner und F. R. Aussenegg. The optical near-field of gold nanoparticle chains. *Opt. Commun.* **248**(4-6), 543 (2005). [→ Seite 114]
- [199] I. Medalsy, O. Dgany, M. Sowwan, H. Cohen, A. Yukashevskaya, S. Wolf, A. Wolf, A. Koster, O. Almog, I. Marton, Y. Pouny, A. Altman, O. Shoseyov und D. Porath. SP1 Protein-Based Nanostructures and Arrays. *Nano Lett.* **8**(2), 473 (2008). [→ Seite 114]
- [200] Y.-L. Xu und B. Å. S. Gustafson. GMM - A Generalized Multi-Particle Mie-Solver. <http://diogenes.iwt.uni-bremen.de/vt/laser/codes/shu.zip> (2001). [→ Seite 116]
- [201] M. Quinten und U. Kreibig. Absorption and elastic scattering of light by particle aggregates. *Appl. Opt.* **32**(30), 6173 (1993). [→ Seite 116]
- [202] M. Abramowitz und I. A. Stegun. *Handbook of Mathematical Functions with Formulas, Graphs, and Mathematical Tables*. Dover Publications, Inc., New York. Ninth Dover printing, tenth GPO printing (1964). [→ Seite 117]

Literaturverzeichnis

- [203] E. Dulkeith. *Optische Charakterisierung von Hybridsystemen aus Gold Nanopartikeln und Farbstoffmolekülen*. Doktorarbeit, LMU München (2004). [→ Seite 124]
- [204] R. Fuchs und F. Claro. Multipolar response of small metallic spheres: Nonlocal theory. *Phys. Rev. B* **35**(8), 3722 (1987). [→ Seite 124]
- [205] N. D. Mermin. Lindhard Dielectric Function in the Relaxation-Time Approximation. *Phys. Rev. B* **1**(5), 2362 (1970). [→ Seite 125]
- [206] D. L. Dexter. A Theory of Sensitized Luminescence in Solids. *J. Chem. Phys.* **21**(5), 836 (1953). [→ Seite 125]
- [207] P. J. Mohr, B. N. Taylor und D. B. Newell. *The 2006 CODATA Recommended Values of the Fundamental Physical Constants*. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, USA. Web Version 5.0 (2007). [→ Seite 129]

Index

- Absorption 16, 38
- Absorptionsquerschnitt . 20, 28, 39, 83, 116
- Absorptionsspektrum 39
- Abstandsverteilung 73
- Affinitätskonstante 46
- Agarose 56, 57, 71
- Aggregation 68
- Albumin *siehe* RSA
- Amid-Bande 106
- Aminosäure 45, 47
- angeregter Zustand 38
- Anode 56
- Anregungsrate 39, 76
- Anregungsverstärkung 41, 75, 76, 81, 83, 84,
86, 96, 102, 120
- Anti-Stokes-Ramanstreuung 42
- Antigen 91
- Antikörper 44, 91
- Atome 15

- Banden
 - Elektrophorese~ 56
- Besselfunktionen, sphärische 18
- Beugungsscheibchen 93
- Biotin 44, 46, 68, 105
- Biotinilierung 46

- Cary 50 Spektrophotometer 54
- CCD-Detektor 63
- Citrat 44, 47
- Citratgold 44
- Citratpuffer 69
- Clausius-Mosotti-Beziehung 23

- Cy3 39, 93
- Cystein 47
- Czerny-Turner-Gitterspektrometer 63
- Czerny-Turner-Monochromator 54

- DDA 29
- de-Broglie-Wellenlänge 60
- Deckglas 62
- Dephasierung 16
- Dialyse 48
- Dialyseschlauch 58
- dielektrische Funktion . 17, 23, 30, 101, 124
- Diffuse Schicht 49
- Digoxigenin 91
- Dimerachse 23
- Dipol 22, 29, 76, 80, 81, 122
 - feld, statisches 22
 - kopplung 22
 - näherung 22
- Dipolmoment 76
- Diskrete Dipolapproximation 29
- DNS 58
- Drudemetall 23
- Dunkelfeldkondensor 61, 62
- Dunkelfeldmikroskopie 61, 62, 93
- Durchstimmbarkeit 94
- Dämpfung
 - durch Oberflächenstreuung 101
 - nichtstrahlende 16
 - strahlende 16

- ebene Welle 21, 26, 76, 87, 96, 116, 120
- elektrisches Feld

Dimer	33, 37	Gelelektrophorese	56, 71, 91
eines oszillierenden Dipols	77	Gelextraktion	58
Einzelpartikel	16	Gelstärke	71
Elektroelution	58, 71, 72	Gersten-Nitzan-Modell	40, 124
Elektronenmikroskopie	60	Gitter	63, 65
Elektrophorese	56, 71, 93	Gitterspektrometer	63
elektrophoretische Beweglichkeit	54	GMM	116
Emissionsspektrum	38, 41, 81, 91	GMM-DIP	122
Emissionsverstärkung	81, 83, 88, 94, 98, 122	GMM-FIELD	25, 117
Energietransfer	39, 75, 80, 82, 122	Goldene Regel <i>siehe</i> Fermis Goldene Regel	
Energietransferfaktor	82, 98, 123, 125, 126	Grundzustand	38
Energietransferrate	40, 98	Gütefaktor	41
Entwicklung			
der Felder in sphärischen Vektorwellen-		Hankelfunktionen, sphärische	18, 117
funktionen		Hapten	44
19		He-Ne-Laser	64
eines Dipolfeldes in sphärischen Vektor-		Heißpunkt	33, 43, 91, 102, 105, 108, 111
wellenfunktionen		Helmholtzgleichung	17
77		Helmholtzschicht	49
ETCALC	124	Henry-Gleichung	55
Extinktionsquerschnitt	20, 28, 53, 54	Hintergrundspektrum	64
Extinktionsspektroskopie	53	hot spot	<i>siehe</i> Heißpunkt
		hydrodynamische Scherfläche	49
		hydrodynamischer Radius	49
		Höhenstrahlung, kosmische	63
FDTD	29		
Feldverstärkung	43, 87, 88, 96, 102, 105, 111,	ImageJ	73
118, 120		Immersionsöl	62
Fermis Goldene Regel	41, 89	Indocarbocyanin	<i>siehe</i> Cy3
Filtration	59	Interbandanregung	16
Finite Difference Time Domain Methode	29	Intrabandanregung	16
Fluktuation	44, 106, 108	Ionenstärke	48, 50
Fluoreszenz	16, 38, 64, 91	isoelektrischer Punkt	50, 51, 69
Fluoreszenzintensität	42	von RSA	47
Fluoreszenzspektroskopie	64, 65, 93	von Streptavidin	45
Fluoreszenzspektrum ...	84, 93, 98, 99, 102		
Fluoreszenzverstärkung	80, 81, 83, 85, 94,	Kathode	56
96, 99		Konformationsänderung bei Ramanstreu-	
Fluorophor	39	ung	
fraktale Nanostrukturen	43	110	
Funktionalisierung	47		

INDEX

- Konjugat, Gold-Protein-~ 47
 Kugelkoordinaten 25, 118
- Ladungstransfer 125
 Lambert-Beersches-Gesetz 54
 Laser 64, 85
 Legendrefunktionen, assoziierte ... 18, 117
 Leitungsband 15
 Lichtstreuung
 elastische 16, 61, 93
 Lichtstrom 21
 Ligand 67, 91
 longitudinale Mode 22, 30, 37, 76, 86, 87, 93,
 105, 118
 Lumineszenz 38
 Lysin 46, 47
- Maxwellgleichungen 17, 25, 78
 Methode mehrerer Multipole 29, 120
 Mie-Theorie 17
 verallgemeinerte . 24, 30, 32, 76, 78, 81
 Mieoeffizienten 20, 21, 116
 Mikroresonator 41
 MMP 29, 120, 123
 Modendichte 41, 75, 89
 Monochromator 54
 MQAggregates 116
- Nahfeld *siehe* Elektrisches Feld
 Nanopartikel 15
 Nanopartikel-Gelelektrophorese 58, 71
 Natriumcitrat *siehe* Citrat
 nichtlokale Wechselwirkungen 125
 Normierungskonstanten 19, 116
 Numerische Apertur 62
- Oberflächenplasmon *siehe* Partikelplasmon
 Oberflächenstreuung 16, 101
 Objektiv 63
 Okular 63, 93
 Optische Dichte 54, 71
- optische Kräfte 112
- PALS 55
 Partikelabstand . 32, 73, 91, 94, 95, 101, 109
 Partikelplasmon 16
 Permeabilität 17
 Permittivität 17
 Phase 15, 37
 Phasenanalysen-Lichtstreuung 54
 Phasenverschiebung 37
 Phonon 42
 Photobleichen 102
 Photolumineszenz 38, 75
 Photonenkorrelationsspektroskopie 48
 pI *siehe* isoelektrischer Punkt
 Plasmon *siehe* Partikelplasmon
 Plasmonkopplung 21, 30, 32
 Polarisisation 64, 86, 93, 105
 Polarisator 62
 Polarisierbarkeit 22, 24
 Polarisierung 15, 16, 22, 33
 Polariton *siehe* Partikelplasmon
 Polydispersität 32
 Porengröße
 von Agarose-Gelen 57
 Poynting-Vektor 20, 80
 Protein 44, 47, 68, 71, 73, 91, 105
 Puffer 57, 58, 69, 71
 Purcell-Effekt 40, 84, 91, 93, 94, 99
 Purcellfaktor ... 41, 84, 88, 98, 111, 123, 125
 für ein Nanopartikelaggregat 82
- Quanteneffizienz ... 39, 84, 85, 98, 100, 123
- Ramanlaser 64
 Ramanlinie 42
 Ramanspektroskopie 64, 107
 Ramanspektrum 105
 Ramanstreuquerschnitt 42
 Ramanstreuung 16, 38, 42, 64, 75, 105

chemische Verstärkung	43	Synthese von Nanopartikeln	44
elektromagnetische Verstärkung	43, 88	Sättigung	42
oberflächenverstärkte	43, 88, 105, 107	TAE-Puffer	58, 71
Ramantensor	42, 88	TEM	60, 71, 73
Ramanverschiebung	42, 106	Thiol	47
Randbedingung	18	Thiol-Gold-Bindung	48
Rasterkraftmikroskop	57, 85	Translationskoeffizienten	27, 79, 116
Resonanter Energietransfer	39	Transmissionselektronenmikroskop ..	<i>siehe</i>
Resonanz	16, 23, 30, 32, 40	TEM	
Resonator	38, 40, 75, 89, 91, 99, 105	Transmissionsgrad	54
Retardierung	25, 29, 114	transversale Mode	22, 32, 33, 38, 76, 86, 87, 105
Rinderserumalbumin	<i>siehe</i> RSA	Vektortranslation	27, 77, 79, 116, 123
Rotverschiebung	93	Vektorwellenfunktionen	
des Dimerplasmons	32, 96	sphärische	18, 25, 77, 79, 118
Rotverschiebung des Plasmons		Verbreiterung des Plasmons	
durch Aggregation	53, 69	durch Aggregation	53, 69
RSA	47, 68, 93, 106	vibronische Unterzustände	38, 94, 102
Rückkopplung	124	Weißlichtspektrum	64
Seed-Gold	48	Wellengleichung	17
SERS	<i>siehe</i> Ramanstreuung,	Wellenzahl	17
oberflächenverstärkte		Wirkungsquerschnitt	
Serumalbumin	<i>siehe</i> RSA	Absorption	<i>siehe</i>
Spektrometer	62, 63, 93	Absorptionsquerschnitt	
Spektrophotometer	54	elastische Lichtstreuung	<i>siehe</i>
Spektroskopie	38	Streuquerschnitt	
zeitauflösende	83	Ramanstreuung	<i>siehe</i>
spontane Emission	38, 39, 75	Ramanstreuquerschnitt	
Stern-Schicht	49	Zerfallsrate	39, 83
Stokes-Ramanstreuung	42	nichtstrahlende	39, 80, 82
Stokes-Verschiebung	39	strahlende	39, 80, 82, 98
Streptavidin	44, 45, 68, 105, 106	Zetapotential	49, 50, 54, 56, 68, 69
Streufeld	76	Zetasizer	54
Streufelder, partielle	28	Zwei-Niveau-System	76, 80
Streukoeffizienten	20, 26, 28, 78, 116		
Streuquerschnitt	20, 28, 95, 116		
Streuspektroskopie, polarisationsabhängige			
63			
Streuspektrum	16, 30, 93, 95, 100, 107		
Streuung, elastische	16, 61, 93		